

T.C.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

ANJİOTENSİN KONVERTİNG ENZİM İNHİBİTÖRLERİ İLE
ANJİOTENSİN RESEPTÖR BLOKÖRLERİNİN KIRIK İYİLEŞMESİNE
OLAN ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr.Ali TURAN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Ahmet BAYAR

ZONGULDAK

2014

T.C.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

ANJİOTENSİN KONVERTİNG ENZİM İNHİBİTÖRLERİ İLE
ANJİOTENSİN RESEPTÖR BLOKÖRLERİNİN KIRIK
İYİLEŞMESİNE OLAN ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr.Ali TURAN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Ahmet BAYAR

Bu çalışma Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. (BAP No: 2012-20-00-06)

ZONGULDAK

2014

TEZ ONAY TUTANAĞI

Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tez Başlığı : Anjiyotensin Konverting Enzim İnhibitörleri ve Anjiyotensin Reseptör Blokörlerinin Kırık İyileşmesine Olan Etkisi

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Ali TURAN

Tez Savunma Tarihi: 25/12/2013

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Ahmet BAYAR

Prof. Dr. Selçuk KESER
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Ahmet BAYAR
Üye

Prof. Dr. Selda SARIKAYA
Üye

UYGUNDUR
26/02/2014

Prof. Dr. Mustafa AYDIN
Dekan



ÖNSÖZ

Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalında sürdürdüğüm uzmanlık eğitimim süresince her türlü bilgi birikimini bizlerle paylaşarak ortopedik cerrahinin bilmek ve görmek olduğunu bizlere öğreten Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Selçuk KESER'e, tüm deneyimlerini bizlerle paylaşarak ortopedik cerrahinin sabırla ve acele edilmeden yapılması gerektiğini bizlere öğreten Sayın Doç. Dr. Ahmet BAYAR'a, asistanlığımın 4.5 yıllık süresi içerisinde birlikte çalışma şansını yakaladığım, ortopedik cerrahinin her türlü komplikasyona açık olabileceği ve bu komplikasyonlarla nasıl mücadele etmemiz gerektiğini öğrendiğimiz Sayın Doç. Dr. Egemen TURHAN'a ve ortopedik cerrahinin mütevazı, esprili ve güleryüzlü tarafınında olduğunu bizlere öğreten Yrd. Doç. Dr. Murat SONGÜR'e teşekkür ederim.

Bu tezin konusunun belirlenmesinden itibaren her türlü bilgi ve deneyimini benimle paylaşarak çalışmanın doğru ve eksiksiz biçimde ilerlemesini sağlayan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ahmet BAYAR'a ayrıca teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmamın histolojik değerlendirmelerini yapan hocalarım Doç. Dr. Meryem AKPOLAT ve Yrd. Doç. Dr. Kanat GÜLLE'ye, istatistiksel değerlendirmeleri yapan hocam Yrd. Doç. Dr. Füzuran KÖKTÜRK'e ve tezimin deney aşamasındaki katkılarından dolayı Vet. Hekim Osman CENGİL'e,

Uzmanlık eğitimimi birlikte sürdürdüğüm asistan ağabeylerim Dr. Bilal Koyuncu, Dr. Volkan Ünay, Dr. M. Kemal Akça, Dr. Onur Kaymakçı ve asistan kardeşlerim Dr. Birol Ilgın, Dr. Fatih Korbay, Dr. Anıl Gülcü, Dr. Yavuz Önel ve Dr. Akın Sezgin'e, birlikte çalıştığım ortopedi servis ve ameliyathanesinin tüm hemşirelerine ve yardımcı personeline teşekkür ederim.

Asistanlığın sanki hiç bitmeyecekmiş gibi yaşanan günleri sonrasında güleryüzüyle, sabrıyla, sevgi ve şefkatiyle, bitmek bilmez aşkıyla beni dimdik ayakta tutan eşim Dr. İnci Turan'a ve var olduğu andan itibaren hayatımdaki her sözcüğü, her görüşü, her duyusu, her hissedışı tümüyle değiştiren biricik oğluma sonsuz teşekkür ediyor, iyi ki hayatımda ve yanımdasınız diyorum.

ÖZET

Ali Turan, Anjiotensin Konverting Enzim inhibitörleri ile Anjiotensin Reseptör Blokörlerinin kırık iyileşmesine olan etkisi, Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Tezi. Zonguldak, 2014.

Renin-Anjiotensin Sistemi (RAS) vücutta kan basıncı ve sıvı-elektrolit modülasyonunun önemli belirleyicilerindendir. Bu sistemin çeşitli dokularda bulunan spesifik reseptörlerine bağlanarak arteriyel vazokonstriksiyonu ve böbrekten suyun emilimini sağlayıp kan basıncını arttırdığı, hücre çoğalmasını, farklılaşmasını, yenilenmesini arttırdığı, iltihabi yanıt artışı sağladığı, programlanmış hücre ölümü ve yeni damar oluşumunu indüklediği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. RAS'ın kemik hücreleri üzerinde de reseptörlerinin olduğunun gösterilmesi sonrasında, RAS'ın kemik hücre yapısı ve mineralizasyonunu üzerine potansiyel etkileri son yıllarda araştırma konusu olmuştur. Ancak bu sistemin kırık iyileşmesi üzerine olan etkileri hakkında literatürde halen yeterli çalışma ve bilgi birikimi yoktur. Bununla birlikte dünyada ve ülkemizde hipertansiyon sıklığı gittikçe artmakta ve bu hastalığın tedavisinde kullanılan yeni kuşak ilaçlar arasında RAS'ı inhibe eden veya bu sistemin reseptörlerini bloke ederek çalışmasını engelleyen ilaçlar da yüksek oranlarda kullanılmaktadır. Bu kullanıma bağlı olarak kemik metabolizması etkilenebilir, buna paralel olarak hipertansif hastalarda meydana gelebilecek olan kırıkların iyileşme mekanizmalarının da etkilenebileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmayı yapmaktaki amacımız; hayvan modelinde Anjiotensin-Konverting Enzim (ACE) inhibitörü ve Anjiotensin Reseptör Blokörünün (ARB) kırık iyileşmesine etkisi olup olmadığını; varsa bu etkinin kırık iyileşmesinin hangi dönemlerinde ortaya çıktığını objektif bulgularla göstererek, antihipertansif tedavi ajanı olarak bu ilaçları kullanan hastalarda oluşabilecek kırıkların iyileşme paterninin, kullanılan antihipertansif tedavi protokolünden nasıl etkilenebileceğine dair ipuçları elde etmektir.

Çalışmamızda 108 adet Wistar-Albino cinsi erkek rat; Kontrol grubu, ACE İnhibitörü verilen grup ve ARB verilen grup olmak üzere eşit sayıda 3 gruba ayrıldı. Genel anestezi altında tüm ratların sol femur orta 1/3 diafiz kısmında açık

yöntemle transvers kırık oluşturulup, intramedüller fiksasyonla tespit yapıldı. Ardından tüm ratlar doğal yaşam alanlarına bırakılıp, ACE grubunun içme suyuna 10 mg/kg dozunda Enalapril, ARB grubunun içme suyuna ise 10 mg/kg dozda Losartan katıldı. Çalışmanın 2 ve 5. haftalarında ratlar sakrifiye edilerek radyolojik ve histolojik olarak kırık iyileşmesi değerlendirildi. Radyolojik olarak Lane-Sandhu tarafından tariflenen metod kullanıldı.

Radyolojik olarak 2. hafta skorları; ACE inhibitörü grubunda 1.80 ± 0.63 , ARB grubunda 1.90 ± 0.73 , Kontrol grubunda 0.80 ± 0.42 olarak bulundu. 2. haftada üç grubun skorları arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.001$). Kontrol grubu skoru, ACE inhibitörü grubuna ($p=0.003$) ve ARB grubuna ($p=0.003$) göre anlamlı derecede düşük bulundu. 5. hafta skorları ACE inhibitörü grubunda 2.89 ± 0.60 , ARB grubunda 1.89 ± 0.60 , Kontrol grubunda 1.67 ± 0.50 olarak saptandı. 5. haftada da üç grubun skorları arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.001$). Kontrol grubu skoru, ACE inhibitörü grubuna ($p=0.001$) ve ARB grubuna ($p=0.001$) göre anlamlı derecede düşük bulundu.

Histolojik olarak 2. hafta skorları; ACE inhibitörü grubunda 2.13 ± 0.83 , ARB grubunda 2.63 ± 0.51 , Kontrol grubunda ise 1.38 ± 0.74 olarak bulundu. 2. haftada üç grubun skorları arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.015$). Kontrol grubu skoru, ARB grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0.007$). 5. hafta skorları ACE inhibitörü grubunda 7.70 ± 0.48 , ARB grubunda 5.88 ± 1.64 , Kontrol grubunda 5.00 ± 0.75 olarak bulundu. 5. haftada da üç grubun skorları arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.001$). ACE inhibitörü grubunun skoru hem Kontrol grubu skoruna göre ($p<0.001$) hem de ARB grubu skoruna göre ($p=0.016$) anlamlı derecede yüksek bulundu.

Bu öncül deneysel çalışmanın sonuçları, ACE inhibitörlerinin kırık iyileşmesi sürecini hızlandırdığını gösterdi. ARB' lerin ise kırık iyileşme sürecinde kısmen olumlu etki gösterdiği izlenmekle birlikte, sonuç üzerinde anlamlı etki yaratmadıkları saptandı.

Anahtar Kelimeler: Kırık iyileşmesi, Anjiotensin Konverting Enzim İnhibitörü, Anjiotensin Reseptör Blokörü, Hipertansiyon, Rat femur

ABSTRACT

Ali Turan, The Effect of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors and Angiotensin Receptor Blockers on Fracture Healing, Bulent Ecevit University School of Medicine, Thesis in Orthopedics and Traumatology. Zonguldak, 2014.

Renin- Angiotensin System (RAS) is an important indicator of regulation of blood pressure and fluid electrolyte modulation. Previous studies had shown that this system, by means of specific receptors in various parts of the body, increases blood pressure by inducing arterial vasoconstriction and renal reabsorption of water, promotes cell proliferation, differentiation and regeneration, increases inflammatory response, induces apoptosis and neovascularization. After demonstration of RAS receptors on bone tissue, potential effects of RAS on osseous cellularity and mineralization became an area of interest. There is insufficient data available regarding the effects of RAS on fracture healing. On the other hand, prevalence of hypertension in the community is increasing and drugs inhibiting RAS or preventing its action by blocking the receptors of the system are prescribed more frequently. Thus, it was hypothesised that bone metabolism may be affected by the use of these drugs, which in turn may alter healing mechanisms of fractures in hypertensive patients.

The aim of this study is to investigate the effects of Angiotensin- Converting Enzyme (ACE) inhibitors and Angiotensin Receptor Blockers (ARB) on fracture healing in an animal model; if there is any effect, to determine the stage of fracture healing affected by these medications by objective criteria and to obtain clues about the influence of antihypertensive treatment protocol on healing patterns in patients using these drugs.

In this study, 108 male Wistar-Albino rats were equally divided into three groups as; Control, ARB group and ACE group. Under general anesthesia, a transverse fracture was surgically made on middle thirds of diaphysis of left femur, followed by intramedullary K-wire fixation to all rats. Afterwards the rats were left to their natural environment and 10 mg/kg Losartan was administered to ARB group and 10mg/kg Enalapril was administered to ACE group by adding the drugs into their drinking water. Rats were sacrificed at 2nd and 5th weeks for radiological and

histopathological evaluation. Radiological evaluation was performed using the methods described by Lane-Sandhu.

Radiological scores at 2nd week were found to be; 1.80 ± 0.63 in ACE group, 1.90 ± 0.73 in ARB group and 0.80 ± 0.42 in Control group. There was significant difference among scores of groups at 2nd week ($p=0.001$). The score of Control group was found to be significantly lower than both ACE ($p=0.003$) and ARB ($p=0.003$) groups. Radiological scores at 5th week were determined to be; 2.89 ± 0.60 in ACE group, 1.89 ± 0.60 in ARB group and 1.67 ± 0.50 in Control group. There was also significant difference among groups at 5th week ($p=0.001$). The score of Control group was found to be significantly lower than both ACE ($p=0.001$) and ARB ($p=0.001$) groups.

Histologic scores at 2nd week were, 2.13 ± 0.83 in ACE group, 2.63 ± 0.51 in ARB group and 1.38 ± 0.74 in control group. There was significant difference among histologic scores of groups at 2nd week ($p=0.015$). The score of Control group was found to be significantly lower than ARB ($p=0.007$). The scores at 5th week were 7.70 ± 0.48 in ACE group, 5.88 ± 1.64 in ARB group and 5.00 ± 0.75 in Control group. There was significant difference among histological results of groups at 5th week ($p=0.001$). ACE group showed significantly higher mean scores than both control ($p<0.001$) and ARB ($p=0.016$) groups.

Results of this preliminary experimental study revealed that ACE inhibitors improved the process of fracture healing. It was also observed that, Angiotensin receptor blockers had also some favorable effects on fracture healing but at the eventual outcome no difference could be demonstrated.

Keywords: Fracture healing, Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor, Angiotensin Receptor Blocker, Hypertension, Rat femur

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
TABLO DİZİNİ	xii
RESİM DİZİNİ	xiii
ŞEKİL DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kemiğin Dokusu Ve İçeriği	3
2.1.1. Osteoblastlar	4
2.1.2. Osteositler	4
2.1.3. Osteoklastlar	5
2.1.4. Kemik matriksi:	6
2.1.5. Periosteum	6
2.1.6. Endosteum	7
2.2. Kemik Tipleri	7
2.2.1. Primer kemik	7
2.2.2. Sekonder kemik	7
2.3. Kemik Kanlanması	8
2.3.1. Metafizo-epifiziel sistem	8
2.3.2. Nütrisyonel arteriyel sistem	8
2.3.3. Periosteal sistem	8
2.4. Kemik Oluşum Tipleri	9

2.4.1. İntramembranöz (mezenkimal) kemikleşme	9
2.4.2. Enkondral kemikleşme	10
2.5. Kırık İyileşmesi	11
2.6. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler	16
2.6.1. Sistemik Faktörler	16
2.6.2. Lokal faktörler	21
2.7. Renin Anjiotensin Sistemi	23
2.7.1. Sistemik renin anjiotensin sistemi.....	23
2.7.2. Lokal renin anjiotensin sistemi	23
2.7.3. Doku renin anjiotensin sistemi	25
2.7.4. Renin anjiotensin sisteminin farmakolojik etkileri.....	26
2.7.5. Anjiotensin reseptörleri	26
2.7.6. Anjiotensin antagonistleri.....	27
3. MATERYAL VE METOD	29
3.1. Cerrahi Teknik.....	29
3.2. Radyolojik Değerlendirme.....	34
3.3. Histolojik İnceleme.....	34
3.4. İstatistiksel Analiz	35
4. BULGULAR	36
4.1. Radyolojik Bulgular	36
4.2. Histolojik Bulgular	38
5. TARTISMA.....	42
6. KAYNAKLAR	46
Ek 1: Etik Kurul Onayı	55

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ACE	: Anjiotensin Konverting Enzim
ALP	: Alkalen Fosfataz
Ang I	: Anjiotensin 1
Ang II	: Anjiotensin 2
ARB	: Anjiotensin Reseptör Blokörü
AT 1	: Anjiotensin Reseptörü 1
AT 2	: Anjiotensin Reseptörü 2
BMP	: Kemik Kaynaklı Morfojenik Protein
Ca	: Kalsiyum
CDGF	: Kondrosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
ECDF	: Endotelyal hücre kaynaklı büyüme faktörü
EGF	: Epidermal kaynaklı büyüme faktörü
FDGF	: Fibroblast Kaynaklı Büyüme Faktörü
IL	: İnterlökin
MDGF	: Makrofaj Kaynaklı Büyüme Faktörü
NSAİİ	: Nonsteroid Antienflamatuar İlaçlar
NO	: Nitrik Oksit
PDGF	: Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü
PG	: Prostaglandin
PPMH	: Pluripotent Mezenkimal Hücreler

PTH : Paratiroid Hormon

RAS : Renin Anjiotensin Sistemi

TGF : Transforme Edici Büyüme Faktörü

TABLO DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Deney grupları ve sayıları	29
Tablo 2. Lane-Sandhu puanlama sistemi	34
Tablo 3. Kırık iyileşmesinin histolojik değerlendirilmesinde kullanılan skorlama kriterleri	35
Tablo 4. 2. ve 5. hafta radyolojik değerlendirme skorları	37
Tablo 5. 2. ve 5. hafta histolojik değerlendirme skorları	39

RESİM DİZİNİ

<u>Resim</u>	<u>Sayfa</u>
Resim 1. Ratın uyluğunun ameliyat için hazırlanması	30
Resim 2. Cilt İnsizyonu	30
Resim 3. Yumuşak dokuların ekartasyonu sonrasında femurun görüntüsü	31
Resim 4. Femur cisminde transvers kırık oluşturulması	31
Resim 5.	
A) Kirschner telinin intramedüller olarak antegrad yerleştirilmesi	32
B) Çivinin diz bölgesinden dışarı çıkarılması.....	32
Resim 6. Uyluğun cilt kapatıldıktan sonraki görüntüsü	33
Resim 7.	
(A) 2. Hafta Kontrol Grubu	37
(B) 2. Hafta ACE Grubu	37
(C) 2. Hafta ARB Grubu	37
Resim 8.	
(A) 5. Hafta Kontrol Grubu	38
(B) 5. Hafta ACE Grubu	38
(C) 5. Hafta ARB Grubu	38
Resim 9. Rat femurlarının kemik iyileşme skorlarını yansıtan Masson'un üçlü boyaması uygulanmış preparat görüntüleri	40
Resim 10. Rat femurlarının kemik iyileşme skorlarını yansıtan Hematoksilen Eozin uygulanmış preparat görüntüleri.	41

ŞEKİL DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Kemiğin kesitsel görünümü	6
Şekil 2. Kemiğin Kanlanması	9
Şekil 3. Enkondral kemikleşme	10
Şekil 4. Kırık iyileşmesi dönemleri	12
Şekil 5. Renin Angiotensin Aldosteron Sistemi	24
Şekil 6. Renin Anjiotensin Sisteminin komponentleri	25

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kemik dokusu diğer sistem ve organların düzgün çalışabilmesi için gerekli olan çatıyı teşkil eder. Kemiğin fiziksel bütünlüğünün bozulması ve etraf yumuşak dokuların hasarlanması kırık olarak tanımlanabilir. Bu patoloji diğer organ ve sistemleri olumsuz yönde etkiler hatta kişinin yaşamını kaybetmesine neden olabilir. Kazalarla oluşan yaralanmalar, Amerika Birlesik Devletleri'nde (ABD) 1-34 yaş arası ölümlerin en sık sebebidir ve 34 yaş üstü ölümlerin en sık on nedeni arasındadır. ABD'de her yıl 33 milyon insanda kas iskelet sistemi yaralanması görülmekte ve bu yaralanmaların 6.2 milyonunda kırık izlenmektedir. Ortopedik girişimler ve tıbbi teknolojideki hızlı ilerlemeye rağmen bazı kırıkların iyileşmesi istenildiği gibi olmamakta, iyileşme zamanında uzama ve bazen de kaynamama görülebilmektedir (1). Ülkemizde de her yıl pek çok insan kas iskelet sistemi travmasına maruz kalmaktadır ve bunun sonucunda kırıklar oluşmaktadır.

Kırık iyileşmesi geçmişten günümüze, üzerinde hep araştırma yapılan bir konu olagelmıştır. Gelişmiş toplumlarda artan kazalar, yaşam hızının artması ve ortalama yaşam süresinin artması ile birlikte kırık sıklığı artmıştır. Bununla birlikte kullanılan değişik özellikteki implantlar, yeni kullanıma giren ilaçlar ve bunların etkileri araştırmacıların bu konuya yoğunlaşmasında etkili olmuştur. Son yıllarda ortopedik tedavi protokollerindeki gelişim ve değişim ile birlikte birçok sorunlu kırıkta başarılı sonuç elde edilmeye başlanmıştır. Tüm bu gelişmelere rağmen bazı kırıklarda yetersiz kaynama, bazılarında iyileşme süresinin uzamasına bağlı maddi ve manevi zarar oluşmaktadır. Bu durumlar hem kişiyihemde yapılan sağlık harcamaları anlamında ülke ekonomisini olumsuz etkilemektedir. Durum böyle olunca birçok bilim adamı kırık iyileşmesini daha iyi anlamak ve iskelet sisteminin normal iyileşmesini sağlamak için yeni yaklaşımlar geliştirmeye çalışmaktadır.

Renin-Angiotensin Sistemi (RAS) vücutta kan basıncı ve sıvı-elektrolit modülasyonunun önemli belirleyicilerindendir. Bu sistemin çeşitli dokularda bulunan spesifik reseptörlerine bağlanarak arteryel vazokonstrüksiyonu ve böbrekten suyun emilimini sağlayıp kan basıncını arttırdığı, hücre çoğalmasını, farklılaşmasını, yenilenmesini arttırdığı, iltihabi yanıt artışı sağladığı, programlanmış hücre ölümü ve yeni damar oluşumunu indüklediği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. RAS' ın kemik

hücreleri üzerinde de reseptörlerinin olduğu ve bu reseptörlere bağlanarak kemik hücre yapısı ve mineralizasyonunu değiştirebildiği çeşitli araştırmalarda saptanmış ancak bu sistemin kırık iyileşmesi üzerine olan etkileri hakkında literatürde halen yeterli çalışma ve bilgi birikimi oluşmamıştır. Garcia ve ark.'nın yaptıkları çalışmada Angiotensin Konverting Enzimin (ACE) kırık iyileşmesini stimule ettiği belirtilmiştir (2). Hiruma ve ark. İse yaptıkları çalışmada anjiotensin II' nin (Ang II) yenidoğan ratların kemik dokusundan elde ettikleri osteoblasttan zengin hücre kültürlerinde doza bağımlı olarak DNA sentezini arttırdığını bildirmişlerdir (3). Hatton ve ark. ang II' nin osteoklastlar üzerine olan etkisini araştırmışlar ve anjiotensin II' nin izole olarak osteoklastların sayısını ve rezorbsiyon fonksiyonlarını artırmadıklarını saptamışlardır (4). Yapılan diğer bir çalışmada hamilelik döneminde ACE inhibitörü kullanımının fetusta kafatası dokusunun oluşmaması ile sonuçlandığı bildirilmiştir (5).

Bununla birlikte dünyada ve ülkemizde hipertansiyon sıklığı gittikçe artmakta ve bu hastalığın tedavisinde kullanılan yeni kuşak ilaçlar arasında RAS' ı inhibe eden veya bu sistemin reseptörlerini bloke ederek çalışmasını engelleyen ilaçlarda yüksek oranlarda kullanılmaktadır. Bu kullanıma bağlı olarak kemik metabolizması etkilenmekte, buna paralel olarak hipertansif hastalarda meydana gelebilecek olan kemik kırıklarının iyileşme mekanizmalarının da etkilenebileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmayı yapmaktaki amacımız; hayvan modelinde ACE inhibitörü ve Angiotensin reseptör blokörünün kırık iyileşmesine etkisi olup olmadığını; varsa bu etkinin kırık iyileşmesinin hangi dönemlerinde ortaya çıktığını objektif bulgularla göstererek, antihipertansif tedavi ajanı olarak bu ilaçları kullanan hastalarda oluşabilecek kırıkların iyileşme paterninin, kullanılan antihipertansif tedavi protokolünden nasıl etkilenebileceğine dair ipuçları elde etmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Dokusu ve İçeriği

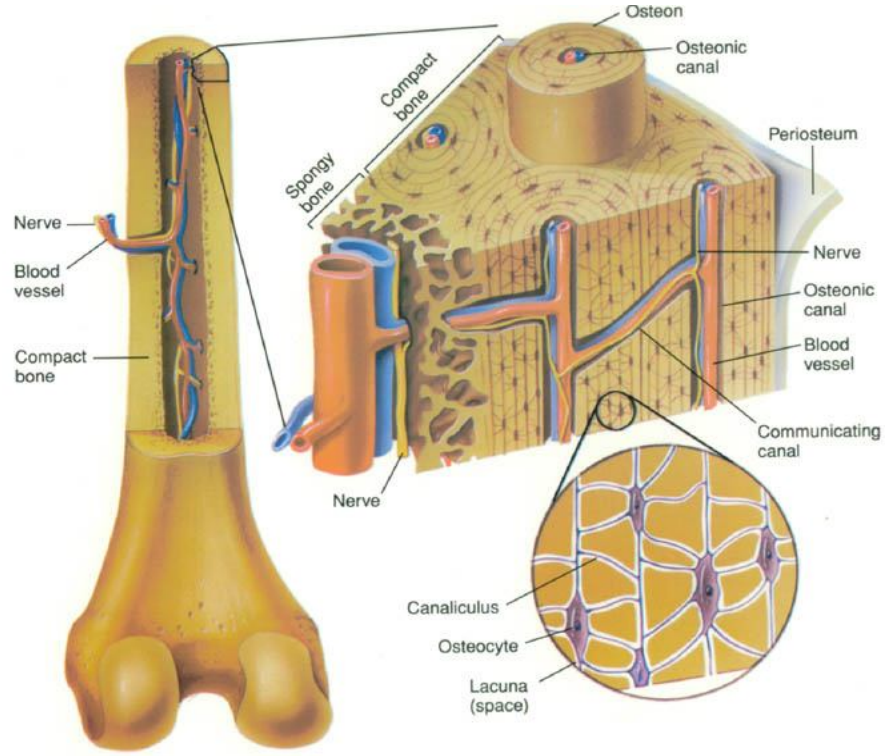
Kemik dokusu vaskülarizasyonu iyi olan, yaşayan ve sürekli değişen mineralize olmuş bağ dokusudur. Dikkat çeken özellikleri sert, dayanıklı, rejenarasyon kapasitesi olması ve ayrıca karakteristik büyüme mekanizmalarının olmasıdır. Kemik dokusu, yapısal özellikleri ve bileşenleriyle ilişkili olarak özel bir organizasyona sahiptir. Hayati organları fiziksel olarak koruyan ve harekete izin veren yapısal bir iskelet oluşturur. Böylelikle mekanik destek sağlar. Kemik iliğini barındırır ve mineral homeostazında rol alır. Kemik dokusu yorgunluğa ve kırılmaya karşı oldukça dayanıklıdır. Bu yapısal özelliğin yanında kütlelerinin de düşük olması, bu dokuyu hareketli canlılar için ideal kılar. Kemik dinamik bir dokudur. Ortamdaki fizyolojik ve mekanik uyarılara yanıt olarak, makro ve mikro yapısında değişiklik yapmasına olanak sağlayan hücresel düzeyde algılayıcı ve yanıt verici sistemlere sahiptir. Bu özelliği sayesinde kemik dokusu kendini yenileyebilmekte ve vücuttaki diğer dokulardan farklı olarak iyileşmesini nedbe dokusu oluşturmadan tamamlayabilmektedir (6-8).

Kemik dokusu esas olarak hücreli ve hücreli olmayan yapılardan oluşmaktadır. Osteoblastlar, osteositler, osteoklastlar ve çeşitli kök hücre dizilerinden köken alan mezenkimal osteoprogenitör hücreler, kemik dokusunu oluşturan hücreli yapılardır. Osteoblastlar pluripotent mezenkimal hücrelerden köken alırlar. Aktive olduklarında kemik matriksini üretirler. Aktif sekresyon yapan osteoblastların yaklaşık olarak üçte biri mineralize matriks içinde kalır ve osteositleri oluşturur. Bu hücreler, kalsiyum ve fosfor homeostazından sorumludurlar. Osteoklastlar monosit öncülerinin birleşmesiyle oluşan çok çekirdekli dev hücrelerdir. Mineralize kemik matriksinin rezorpsiyonundan sorumludurlar. Osteoprogenitör hücrelerse aktive olmayı bekleyen osteoblastların mezenkimal öncüleridir (8-10). Kemik hücreli olmayan matriksi ise organik ve inorganik olmak üzere iki kısma ayrılmaktadır. Kollajen lifleri, proteoglikanlar, glikoproteinler, fosfolipidler ve fosfoproteinler organik kısmı oluştururken inorganik kısımda kalsiyum hidroksiapatit ve osteokalsiyum fosfat bulunmaktadır (8,10).

2.1.1. Osteoblastlar: Pluripotent mezenkimal hücrelerden kaynaklanır. Küboid şekildedirler ve tip 1 kollajen, osteokalsin, osteopontin ve kemik siyaloproteini gibi ürünler sentezlerler. Osteoblastlar mikroskobik olarak protein sentezleyen hücrelerin özelliklerini taşıyıp kemik matriksinin organik bileşenlerinin sentezinden, depolanmasından ve mineralizasyonundan sorumludur. Osteoblastlar kemik yüzeylerinde epitel hücreleri gibi yan yana dizilim gösterirler. Osteoblastların birbirleriyle temasını sağlayan Sitoplazmik uzantıları tutunmak için, aktin ve miyozin demetleri hareketlerini sağlamak için vardır. Alkalen fosfataz (ALP) aktivitesi arttıkça sitoplazmaları bazofilik olur. Sentez işlemleri azaldıkça ALP aktivitesi azalır ve sitoplâzmalarının bazofilik özelliği kaybolur. Dolayısıyla hücreler yassılaşıır. Paratiroid reseptörlerinin olması nedeniyle osteoblastların indirek hormonal aktiviteleri olduğu düşünölmektedir. Osteoblastlar yeni matriks ile çevrelendiklerinde osteosit adını alırlar (11). Kemiği rezorpsiyona uğratan osteoklastların aktivasyon ve farklılaşmasında ve dolaylı olarak kalsiyum mekanizmasındada rolleri vardır. Bazı durumlarda osteoblastlar tekrar osteoprogenitor hücrelere dönüşebilirler.

2.1.2. Osteositler: Osteositler, osteoblastlardan kaynaklanırlar, büyümesini tamamlamış iskelet hücrelerinin %90'ını yaparlar ve matriks lamelleri arasında bulunan lakünalar içine yerleşmişlerdir. Bu lakünelara Howship lakünası denir. Her lakünada bir osteosit yer alır. Matür kemiği oluşturan, matriksinde yer alan major hücre tipidir. Hayatları boyunca osteoblastlarla ve kemik üzerinde bulunan hücrelerle ilişkilerini korurlar. Sitoplazmaları bazofilik, az sayıda organeller ve granüler endoplazmik retikulum içermektedir. Yapı olarak osteoblastlara göre daha yassı ve elipsoiddirler ve çekirdek yapıları daha yoğundur. Daha genç ve aktif osteositler daha yuvarlak görünümde, daha çok endoplazmik retikulum ve büyük golgi kompleksi içermektedir ve bu da onların sekretuar aktivitelerinin daha fazla olduğunun göstergesidir. Her lakünada sadece bir osteosit vardır. Komşu osteositler Sitoplazmik uzantılar ile temas kurup besin maddelerini bu şekilde taşırlar. Bu hücreler kemik matriks devamlılığı için aktif rol alırlar. Bir kemiğin canlılığı osteositlerin canlılığıyla orantılıdır. Osteosit ölümüyle birlikte matriks rezorbsiyonu da başlar (11).

2.1.3. Osteoklastlar: Osteoklastlar kan kaynaklı monositlerin birleşmesi ile meydana gelirler, dolayısıyla mononükleer fagositer sisteme dâhildirler. Sitoplazmaları asidofiliktir. Çok büyük, ileri derecede dallanmış ve hareketli hücrelerdir. Hücre gövdelerinin genişlemiş kısmında çeşitli büyüklükte ve sayıda çekirdek vardır. Hücrenin dalları oldukça düzensiz, farklı biçim ve kalınlıktadır. Hücre içinde 15-20 veya daha fazla nukleusları, çok sayıda lizozom, granüllü endoplazmik retikulum, çok sayıda mitokondri ve iyi gelişmiş golgi cisimciği bulunur. Fonksiyonları kemiği ortadan kaldırmaktır. Bunu proton salgılayarak yaparlar. Kemiği demineralize ederler, lizozomal ve non-lizozomal yol ile kemik matriksini destrükte ederler. Osteoklastlar kemik rezorbsiyonunun başladığı yerde enzimatik olarak açılan Howship Lakünası adı verilen çukurlarda bulunurlar. Kemik rezorbsiyonu tamamlandıktan sonra apoptozise uğrarlar. Osteoblastlar, makrofajlar ve lenfositler osteoklastların rezorbsiyon aktivitesini uyarırken, yükselen intersellüler kalsiyum onları inaktive eder. Osteoklastların aktivasyonu kalsitonin, D vitamini ve bazı düzenleyici moleküllerle sağlanır. Osteoklastlar kemik matriksini etkileyen asit, kollajenaz ve diğer proteolitik enzimleri salgırlar. Aktif osteoklastlarda kemik matriksine bakan yüzde düzensiz yapıda fırçası kenarlar bulunur ve bu bölge kemik rezorbsiyonu için mikro çevre oluşturur(11-13).



Şekil 1. Kemiğin kesitsel görünümü

2.1.4. Kemik matriksi: Kemik, özel bir bağ dokusudur. Kemik matriksi adı verilen hücreler arası madde kalsifiye olmuştur. Matriksi, kuru ağırlığının kabaca %40'ı oranında organik, %60 oranın da inorganik bileşenler oluşturur (14). Organik bileşenler arasında kollajen, proteoglikanlar, kollajen dışı matriks proteinleri, büyüme faktörleri ve sitokinler sayılabilir. Osteokalsin, matriks dışı organik proteinler arasındadır ve düzeyi kemik yapım ve yıkım olaylarının bir göstergesidir. Osteokalsin, Paratiroid hormon (PTH) tarafından inhibe ve 1-25 dihidroksivitamin D tarafından aktive edilir. Kollajen kısım primer olarak Tip 1 kollajenden oluşur ve bu molekülün sonlanma bölgelerinde bulunan boşluklara mineral birikimi olmasıyla kalsifikasyon sağlanır. İnorganik bileşenler arasında kalsiyum hidroksiapatit ve osteokalsiyum fosfat sayılabilir (14).

2.1.5. Periosteum: Kemik dokunun dış kısmı periost denilen sıkı bir bağ doku ile çevrilidir. Periostun dış kısmı kollajen lifler ve fibroblastlardan oluşmuştur. Periostun iç kısmı ise bölünüp farklılaşabilen hücreler bakımından zengindir. Periosteal

kollajen liflerden oluşan “sharpey lifleri” periostun kemik matrikse bağlanmasını sağlar. Az miktarda granüllü endoplazmik retikulum ve golgi içerirler (11,12).

2.1.6. Endosteum: Kemiğin içindeki bütün boşlukları örter, tek kat yassı osteoprogenitör hücreler ve az miktarda bağ doku içerir. Periosteum ve endosteumun temel işlevleri kemiğin beslenmesi, büyümesi ve onarımı için gerekli olan yeni osteoblastların yapımını sağlamaktır. Periosta nazaran daha ince yapıdadır. Bu nedenle cerrahi sırasında özenle korunmalıdır (11,12).

2.2. Kemik Tipleri

İki ana tip kemik vardır; kortikal ve trabeküler. Kemik kütlelerinin %25’ini oluşturur. Kemik kütlelerinin %75’ini dış tabaka olarak kortikal kemik oluşturur. Trabeküler kemiğin yüzey alanı daha fazladır ve kortikal kemikten daha yüksek döngüye sahiptir. Trabeküler (spongioz) kemik, kemiğinin iç gücünden sorumludur. Buna bağlı olarak osteoporoz gibi bazı kemik rahatsızlıklarında en fazla kemik kaybını göstermektedir ve tedaviye yanıtı daha fazladır. Kemiğin mekanik özellikleri her ne kadar matriksin içeriğine bağlıysa da, dayanıklılığı ve içeriğin dizilimine de bağlıdır. İncelemeler sonucunda 2 farklı tip kemik oluşumu gözlenmiştir; Primer (Olgunlaşmamış) kemik ve sekonder (Olgunlaşmış) kemik.

2.2.1. Primer kemik: Embriyolojik gelişim sürecinde ve kırık iyileşmesinde ilk ortaya çıkan kemik türüdür. Rastgele ve değişik yönlere dağılmış ince kollajen lifler içerir. Çok aktif osteoblastlar tarafından sentezlenir. Geçicidir ve yetişkinde dış alveolleri ve tendon-kemik bileşkesinde bulunur. Diğer bölgelerde yerini sekonder kemiğe bırakır.

2.2.2. Sekonder kemik: Genelde erişkinlerde bulunan kemik tipidir. Kollajen lifler paralel ve vasküler bir kanal etrafında yerleşmiş şekilde bulunurlar. Kan damarlarını, sinirleri ve gevsek bağ dokusunu içeren bir kanal etrafını saran, dairesel lamellerin meydana getirdiği bütünlüğe “havers sistemi”denir. Uzun bir silindir seklindedir. Havers kanalları birbirleriyle “volkmann kanalları” denilen oblik ve transvers kanallarla bağlanırlar. Kompakt kemikte (trabeküler) ise damar ve kanal sistemleri

bulunur. Kalın trabeküller küçük osteonlar içerebilir. Kemik yüzeyindeki nutrisyonel foramenlerden kan damarları geçerek önce volkman sonra havers kanallarına ulaşır ve iki yöne doğru yayılırlar. Bu sayede kompakt kemik beslenmesi sağlanır (11,12). Spongioz kemik ince uzun ve düzensiz trabeküllerden oluşur. Kanal sistemi damar içermez ve beslenmesi içerisinde bulunan kemik iliği ile sağlanır. Kemik yapısında haversian kanallar ana alt birim olarak bilinir. Haversiyen sistem sekonder osteon olarak adlandırılır. Erişkin iskelet sisteminde yaklaşık 21 milyon osteon bulunmaktadır (12,13). Her kanalın içinden milimetrik fenestre endoteliumla kaplı bir kapiller ve genellikle myelinize olmamış sinir geçer. Sekonder osteositleri bulundukları çevreden sement çizgisi ayırır.

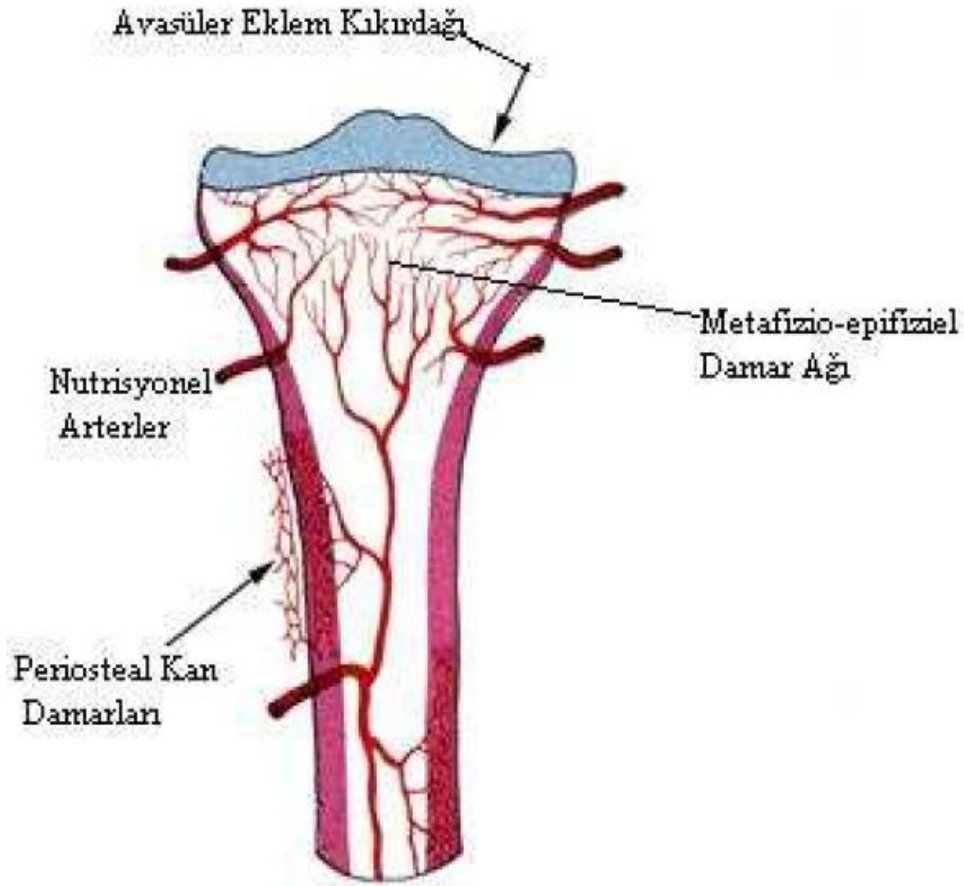
2.3. Kemiğin Kanlanması

Kemik, kalp kan atımının yaklaşık %5-10' unu alır. Damarlanmayı azaltan maddeler klinik olarak kırık kaynamasını olumsuz olarak etkilerken, kan akımı ve damarlanmayı artıran maddeler ise kaynamayı hızlandırmak için kullanılabilirler (15). Kemiğin kan ile beslenmesi üç yolla olur:

2.3.1. Metafizo-epifiziel sistem: Arterler çevresindeki vasküler ağdan kaynaklanır.

2.3.2. Nutrisyonel arteryel sistem: Sistemik dolasımı sağlayan ana arterlerden direkt olarak yüksek basınçla çıkarlar ve olgun diafiziel korteksin 2/3 iç tabakasını beslerler.

2.3.3. Periosteal sistem: Düşük basınçlı sistemdir ve olgun diafizin 1/3 dış tabakasını besler.



Şekil 2. Kemiğin Kanlanması

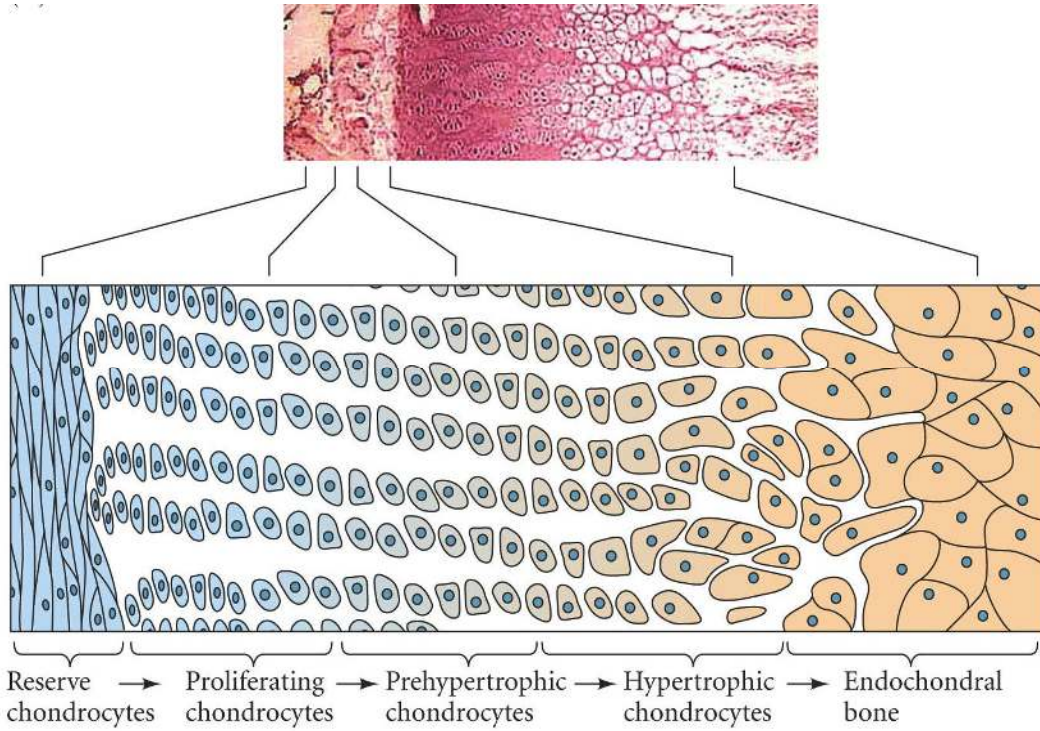
2.4. Kemik Oluşum Tipleri

2.4.1. İntramembranöz (mezenkimal) kemikleşme:

Pek çok yassı kemiğin kaynaklandığı intramembranöz kemikleşmeye, mezenkimal doku yoğunlaşmaları içinde olduğu için bu ad verilmiştir. İntramembranöz kemikleşme kıkırdak model olmadan kemik oluşumdur (14). Çok iyi kanlanan vasküler bağ dokusunun doğrudan mineralizasyonu ile oluşur. İntramembranöz kemikleşmenin olacağı bölgedeki mezenkimal hücrelerinden fibroblastlar gelişerek kollajen sentezlerler. Fibriller yapıdaki kollajenin membran yapısını oluşturur. Membran içindeki mezenkimal hücrelerinden osteoblastlar farklılaşır. Osteoblastlar organik matriks sentezine başlarlar. Bir kısım osteoblast, sentezlenip kalsiyum

yoğunluğu artmış olan matriks içinde kalarak osteosite dönüşür. Bağ dokusunun kemikleşmeye katılmayan bölümleri periost ve endosteumu oluştururlar(14).

2.4.2. Enkondral kemikleşme: Embriyolojik hayattan büyümeye kadar iskeletin kıkırdaktan oluşmuş kısımlarının kemikleşmesine endokondral kemikleşme denir. Bu tür kemikleşme kısa ve uzun kemiklerin şekillenmesinden sorumludur. Hyalen kıkırdaktan oluşmuş küçük bir model içinde cereyan eder. Enkondral kemikleşme iki aşamadan oluşur. İlk aşamada kondrositlerin hipertrofisi ve harabiyeti sözkonusudur. İkinci aşamada osteoprogenitör hücreler harabiyet oluşan boşluklara yerleşirler. Burada osteoblastlara dönüşürler. Osteoblastlar kalsifiye kıkırdak matriksi üzerinde aralıksız bir tabaka oluşturarak kemik matriksini sentezlemeye başlarlar. Böylece primer kemik sentezi başlamış olur (13).



Şekil 3. Enkondral kemikleşme

2.5. Kırık İyileşmesi

Dayanabileceğinin üzerinde bir kuvvete maruz kalması sonucu, kemik dokusunun anatomik yapısının akut olarak bozulmasına kırık denir. Kemiği kıracak bir yaralanma matriksin, damarsal yapıların yanında periostun ve kasların da yaralanmasına yol açar. Kırık iyileşmesi kırık oluşumuyla başlar ve düzenli kemik doku ile kemik uçları birleşinceye kadar devam eder (11). Kırık iyileşmesi eşsiz, birbiriyle bütünleşmiş olaylar zincirinden oluşur ve iyileşme tamamlandığında kemik, yaralanma öncesi durumuna döner. Kırık oluşmasından sonra başlayan fizyolojik reaksiyonlar, bozulan bütünlüğün yeniden sağlanmasına yöneliktir. Kırık iyileşmesinde mekanik, moleküler ve biyolojik faktörlerin etkileşimi söz konusudur (11). Kemik skarlaşma yapmadan remodeling yoluyla iyileşir. Kırık iyileşmesinin temelde 2 tipi vardır (16):

a- Primer (direk) kırık iyileşmesi

b- Sekonder (indirek) kırık iyileşmesi

Direk (primer) kemik iyileşmesinde kallus dokusu oluşmadan osteon remodelingi olur. Remodeling iki kırık fragman arasında çok iyi kompresyon varsa olur. Kırık oluşumundan birkaç hafta sonra havers sistemi gelişerek kemiğin remodelingi başlar. Kırık fragmanların arasındaki boşluk osteon yapılarla doldurulur.

İndirek (sekonder) kemik iyileşmesinde, kallus oluşumu normal kırık iyileşmesi mekanizmasını takip eder. İndirek kemik iyileşmesi embriyolojik kemik gelişimine benzer ve intramembranöz ve endokondral kemikleşme içerir. Histolojik olarak iyileşme evreleri sırayla değil birbiriyle iç içe görülür (17).

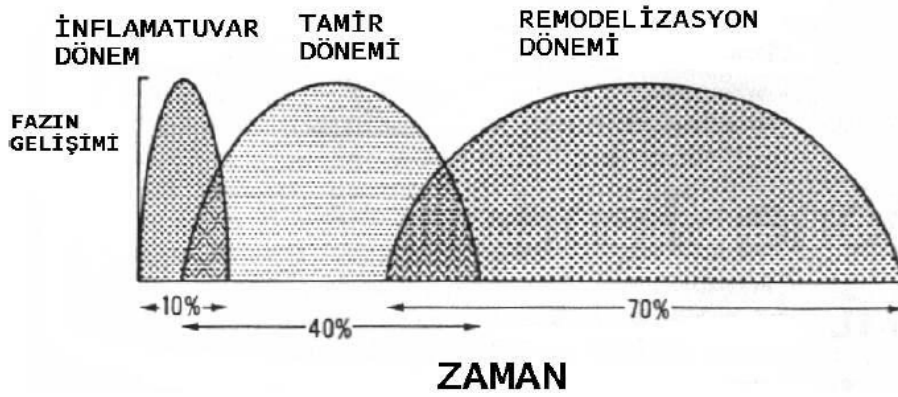
2.5.1. Kırık iyileşmesinin evreleri

Kırık iyileşmesi klasik olarak 3 basamakta gerçekleşir (18):

1-Enflamasyon dönemi

2-Onarım dönemi

3-Remodelasyon dönemi



Şekil 4. Kırık iyileşmesi dönemleri

Dönemler kendi içlerinde gerçekleşen hücresel aşamalara göre: Hematom oluşumu enflamasyon- anjiogenez-yumuşak ve sert kallus gelişimi-remodelasyon şeklinde daha ayrıntılı basamaklarda da tanımlanabilir (18). Bu süreç; kesin sınırlarla ayrılmayıp birbiri içine giren basamaklar şeklinde gerçekleşir.

2.5.1.1. Yangı (inflamasyon) evresi: Tüm travmalarda olduğu gibi kırık sonrasında da verilen ilk cevap inflamasyon yani yangıdır. Kırık oluşumuyla birlikte matriks hasarı, periosteum ve endosteum yırtıkları, kırık uçlarının yer değiştirmesi gözlenebilir. Oluşan travmayla birlikte kırık uçları periost ve çevre yumuşak doku hasarı oluşturur. Yırtılan küçük damarlar ve lenfatiklerden sızan kan ve lenf sıvıları aynı bölgede toplanır. Kanama olan bölgeye pıhtılaşmayı sağlamak amacıyla trombotik faktörler salınır. Pıhtılaşma başlayınca da hem kırık uçları arasında hem de periost altında hematoma meydana gelir. Hematom kırık uçlarını bir arada tutar ve sekonder iyileşmede önemli bir rol alır. Açık kırıklarda ve cerrahi fiksasyon için açılan kırıklarda kırık hematoma dışarı boşaldığından iyileşme süreci biraz gecikir, hatta kaynamama bile gözlenebilir. Kırık hematoma fibrin yapıda bir iskelet oluşturarak onarım hücrelerine yardımcı olur. Ayrıca salınan büyüme faktörü ve bazı proteinler aracılığıyla periosteal hücre artışına ve matriks sentezi artışına yardımcı olur.

Kırık sonrasında önce geçici bir arterioller daralma olur, hemen sonrasında mast hücrelerinden histamin salınımıyla hem arterioller hem venüller hem de kılcal

damarlarda genişleme gözlenir. Kırık bölgesinde kılcal damarların geçirgenliğinin artmasıyla da ödem oluşur. Son olarakta lökosit, monosit ve lenfositler ödemli bölgeye doğru yer değiştirirler. Komsu havers sistemleri arasında çok yetersiz anastomozlar olması nedeniyle kırık hattının her iki tarafında bir miktar dolaşım bozukluğu oluşur ve nekroz gözlenir. Akut yangının başlamasında nekrotik dokular ve kırık bölgesinde açığa çıkan prostaglandinler etkilidirler (17).

Kırık bölgesindeki hematoma 48 saat içinde organize olarak fibrin bakımından zengin bir hal alır. Lökosit ve makrofaj diapedezi ile fibrin matriksi oluşur. Büyük kemik kırıklarında makrofaj ve monositler interlökin (IL-1) salgırlar. IL-1 lenfosit göçünü, kemik geri emilimini (rezorbsiyon) sağlar ve ateş oluşumunda görev alır (17).

2.5.1.2. Onarım (yumuşak kallus, sert kallus) evresi: Onarım evresinin ilk aşaması hematoma organize hale gelmesidir. İyileşme evrelerinin en önemli kısmıdır. Çeşitli mekanizmalarla hassaslaşan öncü hücreler farklılaşarak yeni damar, fibroblast, hücreler arası madde ve destek hücreler oluştururlar. Onarım evresi kırık oluştuktan birkaç saat sonra başlar ama 7-12 gün içinde belirgin hale gelir. Onarım mekanizmasında rol alan hücreler çok yönlü gelişim gücüne sahip hücrelerdir. Bu hücreler kırık bölgesindeki granülasyon dokusundan, periosteumun osteojenik tabakasından ve nadiren de endosteumdan köken alırlar. Bu hücreler farklılaşmaya başlayınca öncelikle kılcal damarlarla hematoma içine giren fibroblastlar değişikliğe uğrarlar. Üçüncü gün sonunda kırık uçlarında yoğun mezenşimal hücre mevcudiyeti vardır. Bu hücreler kırık uçları arasında yumuşak bir granülasyon dokusu oluşturur. Bu granülasyon dokusu periosteal ve endosteal osteojenik hücrelerle ve fibrin matriksteki fibroblastların çoğalıp farklılaşmasıyla oluşur. Fibroblastlar kollajen sentezlerken kondroblastlar kollajen ve glikozaminoglikan, osteoblastlar ise osteoid salgırlar. İyileşme sürecindeki kemiğin gerilmeye karşı dayanıklılığı içindeki kollajenle orantılıdır. Kallus boyutu kırığın hareket derecesiyle doğru orantılıdır. Yaşlanmayla birlikte bu hücrelerin farklılaşma kapasiteleri azalır. Periosteumun hasar görmesi ya da ortamdan uzaklaştırılması kırık iyileşmesini geciktirir (19-21). Kırık bölgesinde mezenşimal hücrelerin çoğalması ilk 16 saatte saptanmıştır. Bu çoğalma, kırık sonrası 32 saatte en üst düzeye çıkar. Kırık iyileşmesinin ilk

dönemlerinde periosta ait damarlar, geç dönemde ise besleyici damarlar kılcal damar tomurcuklanmasına yardımcı olur. Kanla beslenmenin daha iyi olduğu kemiğe yakın seviyedeki hücreler osteoblastlara dönüşür, yakın olmayan kısımda kılcal damarların gelişim hızı hücre çoğalmasının hızına uyum gösteremediğinden, hücreler kondrosit ve kondroblastla farklılaşarak kıkırdak dokuyu oluşturur (15,21). Onarımın ilk zamanlarında kıkırdak kallus oluşumu belirginleşir. Kıkırdak kallusun damarlanmasından sonra kemik gelişimi başlar. Kan dolaşımı yeterli düzeyde olursa osteoblastlar kallus içinde normal kemik gelişimine elverişli matriksi sağlamış olurlar. Hücre düzeyinde yapılan çalışmalara göre; damar endoteli sialik aside bağlı olarak, kıkırdak dokuda proteoglikanlardan zengin olduğu için negatif yüklüdür. Yeni damarlar ile kıkırdak doku arasındaki bu itme kuvveti nedeni ile damarlanma engelleniyor gibi gözükmetedir. Kalsiyum (Ca) bu negatif yükü pozitifçe çevirerek, yeni damarların kıkırdak dokuya yönelimini sağlamaktadır. Dolayısıyla kemik kallus dokusu gelişimi için damarlanma, bunun sağlanabilmesi için de osteoidin mineralizasyonu gereklidir (1).

Periostun iç (kambiyum) tabakasındaki Pluripotent Mezenkimal Hücreler (PPMH) kırık bölgesindeki erken dönem kemik yapımında rol alırlar. Bunlar doğrudan osteoblastlara farklılaşarak periostal intramembranöz kemikleşmeyi başlatırlar. Yani periosttan kaynaklanan intramembranöz kemik yapımı, kırıktan hemen sonra başlar. Oluşan intramembranöz woven kemik kırık hattının her iki kenarına bitişik olarak görülmeye başlar ve kallus merkezine doğru ilerler. İntramembranöz kemikleşme sonucu meydana gelen kallusa kemik kallus (sert kallus) denir. İntramembranöz kemikleşme kırık sonrasında 8-16 günde periost altında belirgindir (22,23). Bir yandan periostal kemikleşme devam ederken bir yandan da diğer çevre yumuşak dokulardan ve kandan gelen PPMH, hematomun yerini alan granülasyon dokusu içinde yer alırlar. Kırık sonrası 4. günde PPMH'in çoğalması ve farklılaşması ile kallus oluşumu başlar. Bu noktada yeni kemik oluşumu belirgindir. Bu hücreler fibroblastlara ve kondroblastlara farklılaşır ve granülasyon dokusunun merkezinde kıkırdak oluşumu başlar. İlk kıkırdak hücreleri 4. günde belirmeye başlar. Fakat kırık hattında ve çevresinde kıkırdak dokunun görülmeye başlaması kırık sonrası 8. günde olur. Kırık iyileşmesinin 2. haftasının ortalarında kırık bölgesini yaygın olarak kıkırdak doku kaplar ve kalsifikasyon için

biyokimyasal hazırlığa başlarlar. Bu aşamadaki kallus kırıkta kallus (yumuşak kallus) olarak bilinir (22,23). Kırık kemik uçları iç ve dış kallus gelişimiyle çok sağlam bir yapı oluşturur. Kallus gelişimi çocukta daha hızlı olur. Ayrıca trabeküler kemikte kompakt kemiğe göre daha hızlı olur. Kırık sonrası kallus oluşumu ve mineralizasyonu 4-16 haftayı gerektirir. Kallus kaynamanın bir belirtisi olmasına rağmen son nokta değildir. Onarım evresinin ortalarında gereksiz ve etkisiz kallus dokusunun geri emildiği remodeling başlar.

2.5.1.3. Yeniden şekillenme (remodeling) evresi: Kırık iyileşmesi evrelerinden en uzun sürenidir. Birkaç yıl devam edebilir Bu evrede güçlü ve düzensiz kallusun normale yakın güçteki düzenli lameller kemiğe dönüşümü gözlenir. Onarım evresinin ortalarında başlayıp 4-16 hafta sürebileceği gibi yıllarca da devam edebilir (24). Yeniden şekillenme döneminde 4 olay gözlenir:

- 1- Kalsifiye kırıkta, osteoid dokuyla değişip birincil trabeküler dokuya dönüşür.
- 2- Lameller kemik oluşan dokunun yerini alır.
- 3- Kompakt kemik uçlarındaki kallus lameller kemikten yapılan ikincil osteonlara dönüşür. Lameller kemik, kas kuvveti ve mekanik streslere paralel olarak düzenlenmiş osteonlardan oluşur.
- 4- İlik kanalı dereceli olarak yeniden şekillenir. Kanal içindeki kallus rezorbe olarak boşluklar yeniden düzenlenir.

1892 yılında Wolf, iskelet sistemindeki yapılanmanın, kemikler üzerindeki mekanik baskılara uygun bir yapılanma gösterdiğini ifade etmiştir. Daha sonra Wolf kanunu olarak isimlendirilen bu kanuna göre kemiğin işlevsel durumundaki bir değişiklik, dokuda yapısal değişikliklere yol açmaktadır. Bu kanun günümüzde de kemiğin yeniden şekillenmesinde temel bir kural olarak kabul edilmektedir. Mekanik strese maruz kalan kemiğin dışbükey yüzü pozitif, içbükey yüzü ise negatif elektrik yükleniğinden, osteoklastik aktivitenin hakim olduğu dışbükey yüzde yıkım ve osteoblastik aktivitenin hakim olduğu içbükey yüzde ise yeni kemik yapımı olmaktadır. Sonuç olarak açılanma düzelir ve kemik düzgün duruma gelir. (1,12,22).

2.6. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Kırık iyileşme süreci birçok faktörün etkili olduğu, hayli karışık fizyolojik bir süreçtir. Kırığın olduğu yer, kırık yerinin kanlanma özellikleri, kırığın açık veya kapalı oluşu ve muhtemelen kullanılan ilaçlar örneğin; steroidler, nonsteroid antienflamatuarlar (NSAİİ), antikoagulanlar gibi birçok değişken kırık iyileşmesini etkiler. Şayet kırık uçları birbirine çok yakınsa, kırık uçlarında yeterli tespit yapılmışsa, kemiğin kanlanması iyiye, kırık yeri yumuşak doku örtüsü iyi ve iltihap yoksa genelde kırık iyileşir (25). Kırık iyileşmesini etkileyen faktörler sistemik ve lokal olmak üzere başlıca iki ana grupta incelenebilir (26-31).

2.6.1. Sistemik Faktörler

2.6.1.1. Yaş: Hasta yaşı ile kırık iyileşme süreci birbiri ile direkt bağlantılıdır. Çocukluk çağında revaskülarizasyon ve mezenşimal hücre farklılaşması oldukça hızlı seyredir. Bu nedenle çocuklarda kırık iyileşmesi erişkinlerden daha hızlıdır.

2.6.1.2. Beslenme durumu: Kırık iyileşmesi hassas dengeler üzerine kuruludur. Basit açlık durumu gibi kan glikoz ve protein dengesini etkileyen durumlar bile kırık iyileşmesini olumsuz şekilde etkileyebilir.

2.6.1.3. Hormonlar

a) Büyüme hormonu: Tüm vücudun dokuların büyümesinden sorumlu bir hormondur. Uzun veya kısa olmak hormon seviyesine bağlıdır. Cinsiyet hormonları ile birlikte çalışır. Yeni kemik oluşumunu stimüle eder. Epifiz plağında kırık dokü hücrelerin dejenerasyonuna sebep olur. Kırık iyileşmesi üzerine etkileri halen tartışmalıdır. Büyüme hormonu miktarındaki azalmanın kırık iyileşmesini yavaşlattığına ait çalışmaların varlığı yanında bu hormon miktarındaki fizyolojik sapmaların kırık iyileşmesinde çok az etkisi olduğuna ait çalışmalar da mevcuttur. Büyüme hormonunun, kallus hacminde artışa sebep olduğu belirtilmektedir (32).

b) Paratiroid hormon (PTH): Kemik dokusu Ca^{+2} iyon deposudur. Diğer dokulara nazaran 500-1000 kat daha fazladır. PTH'nın osteoklast sayısını artırıcı,

kemiğin yeniden sekillenmesini uyarıcı ve osteositleri uyarak osteolizi hızlandırıcı etkileri vardır. Osteoblastların üzerine dolaylı etkisi olsa da, net sonuç kemik kaybı ve kırık iyileşmesinin yavaşlamasıdır (33-35).

c) Kalsitonin: PTH'un antagonistidir. Hem kompakt, hem de trabeküler kemik yapımını artırır. Kalsitonin dozu ve yeni kemik oluşumu arasında doğru orantı vardır. Ancak iyileşmeyi olumlu yönde etkileme mekanizması henüz açıklanamamıştır.

d) İnsülin: Kemik ve kollajen dokuların büyümesinde ve metabolizmasında çok önemli rol oynar. Kırık iyileşmesini hızlandırmaktadır. Proteine bağlı kalsiyum artısını etkileyerek kırık iyileşmesine yardımcı olur. Hayvan modellerinde diyabet varlığının mezenkimal hücre proliferasyonunu inhibe ederek kırık iyileşmesini olumsuz etkilediği ortaya konarken, insülinin kemikteki kollajen sentezini stimüle edici etkisi son derece önemli bir durum olarak belirtilmiştir (36-38).

e) Tiroid hormonu: Tiroid hormonu da paratiroid hormonu gibi kemiğin yeniden sekillenmesine yardım eder. Kırık iyileşmesine de yardım ettiği ileri sürülmüştür.

f) Cinsiyet hormonları: Androjen ve östrojenler normal kemiğin büyümesinden ve gelişiminden sorumludur.

g) Kortikosteroidler: Kortizon kırık iyileşmesini yavaşlatır. Mezenşimal hücrelerden osteoblast gelişimi ve matriks oluşumu için gerekli moleküllerin sentezini yavaşlatıp, kırık iyileşmesini geciktirir. Ayrıca kallus oluşumunu azaltır. Fibroblast kaynaklı büyüme faktörü (FDGF), epidermal kaynaklı büyüme faktörü (EGF), ve platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) üzerine antagonist etki yaparak kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkiler (39-42)

2.6.1.4. Sistemik hastalıklar: Diyabetes mellitus, anemi, tüberküloz, raşitizm gibi sistemik hastalıklar da kırık iyileşmesini geciktirir. İltihabi olaylar (tüberküloz, kronik hastalıklar), hiperemi nedeniyle kalsiyum tuzlarının çözünmesini etkiler. Artan lökositlerdeki proteolitik enzimler matriksin bozulmasına neden olur ve osteoid oluşumunu engeller. Dolaşım sistemi ile ilgili hastalıklardaki hiperemi kemikleşmenin azalmasına ve osteoporoza neden olur.

2.6.1.5. Vitaminler: A vitamini normal dozda mezanşimal hücre farklılaşmasını uyarak kırık iyileşmesine yardımcı olur. Eksikliğinde osteoblast düzenlenmesinde

ve osteoklast aktivitesinde bozulma olur ve kemik oluşumu engellenir. A vitamini fazlalığındaysa hücre çoğalmasının olmamasıyla birlikte kırıkta kolonlarında erozyon meydana gelir. Osteoklastlara farklılaşma fazla uyarılır ve kırık iyileşmesi gecikir. C vitamini, dolaylı yoldan kemik iyileşmesini olumlu etkiler (43). D vitamini, normal dozlarda kırık iyileşmesini hızlandırır. D vitamini eksikliğinde kalsiyum düzeyi düşer ve kemik kalsifikasyonu zayıflar. D vitamini kalsiyumun kemikten kana geçişini ve kemik hücrelerinde sitrat üretimini artırır. Ayrıca kemiğin yeniden şekillenme evresinde rol oynar. Sonuç olarak; D vitamini normal dozda kırık iyileşmesini hızlandırırken, toksik dozda olumsuz etki gösterir. B5 vitamini eksikliği ve K vitamini antagonistleri kırık iyileşmesine olumsuz etki ederler.

2.6.1.6. İlaçlar:

a) Antikoagülanlar: Bu grup ilaç alan hastalarda oluşabilecek kırıklarda iyileşme sürecinde genellikle önemli bir farklılık saptanmamıştır. Bunun yanı sıra heparin ve kumadin sağaltımında iyileşmelerin sınırlı kalabileceği de vurgulanmıştır.

b) Nonsteroid anti-inflamatuar (NSAİİ) ilaçlar: Etki mekanizması tam olarak belirtilmemiş olsa da kırık iyileşmesi üzerine inhibe edici etkisi saptanmıştır. Deneysel çalışmalar NSAİİ'lerin kemik matriksinin osteoindüktif içeriğini değiştirmedeğini ancak inflammatuar cevabı azaltarak ve prostoglandin sentezinin inhibe ederek etkili olduğunu göstermiştir. Başka çalışmalar ise NSAİİ'lerin osteogenezisin erken dönemindeki kan akımı artışını engelleyerek ya da mezenkimal hücre proliferasyonunu azaltarak etkili olabileceği göstermiştir.

2.6.1.7. Merkezi sinir sistemi travmaları: Travmatik beyin hasarlı hastalarda uzun kemiklerde ve eklemlerde artmış bir osteogenesis saptanmıştır.

2.6.1.8. Nikotin: Sigaranın kemik, eklem ve adale sağlığı üzerinde de olumsuz etkileri saptandı. Amerikan Ortopedik Cerrahlar Akademisi Kongresi'nde yapılan açıklamada, nikotinin, kemiklerin iyileşmesini yavaşlattığı belirtildi. Sigaranın C ve E vitaminlerinin antikanserojen etkisini azalttığını da vurgulayan uzmanlar, sigara tiryakilerinin kemiklerinin daha çabuk kırılabilceğini kaydettiler. Sigara içiminin kırık iyileşmesindeki inhibe edici etkisi deneysel modellerde gösterilmiştir. Bununla birlikte nikotinin kırık iyileşmesi ve füzyon üzerine olumsuz etkisinin osteoindüktif

kemik büyüme faktörü ile azaltılabileceği de belirtilmiştir. Tütün ürünlerini kullanan bireylerde kaynamama oranının 2-4 kat daha fazla olduğu başka çalışmalarla da gösterilmiştir. Tavşanla yapılan deneysel posterolateral spinal füzyon modelinde spinal füzyon sırasında sitokin salınımı üzerine nikotinin etkileri araştırılmış ve nikotinin sitokinlerin salınımı inhibe ettiği bundan dolayı neovaskülarizasyon ve osteoblastik dönüşümü olumsuz etkilediği gösterilmiştir.

2.6.1.9. Sistemik büyüme faktörleri: Polipeptid yapıda olan büyüme faktörleri hücre fonksiyonunun lokal düzenleyicisidirler. Kırık oluşumu sırasında osteoblast ve osteoklastlar iyileşme için yeterli miktarlarda değildir. Bu dönemde kırık iyileşmesi öncü ve destek hücreleri, kılcal damar, lenf, sinir sistemi ve yerel aracılı mekanizmalarla sağlanır. Kırık sahasında yerel olarak üretilen ya da kan dolaşımıyla gelen, bölgesel seviyelerde kemik dengesini koruyabilen kenetleyici "coupling" faktörlere ihtiyaç vardır. Bu faktörler arasında prostoglandinler ve kemik uyarıcı faktörler sayılabilir.

a) Prostaglandinler (PG): Hücre membranında bulunan araşidonik asitten meydana gelen yağ asitleridir. Araşidonik asitten siklooksijenaz enzimi yardımıyla her biri doymamış bağlantıya sahip iki yan zincirle birlikte bir veya iki halka ile meydana gelen değişik prostoglandinler oluşur. Hücre duvarının ve kollajenin yaralanmalarında sentezlenir. İltihap hücrelerine kemotaktik etkiye sahiptir ve akut iltihabi reaksiyonun önemli araçlarıdır. Güçlü vazodilatatördürler. Hücre çoğalmasını hızlandırırlar. Lenfositlerin antikor yapımını düzenlerler (immün düzenleyici özellik). Hücre içine ve dışına Ca hareketini kolaylaştırır. PGE2 ve PGI2 nin kemik geri emilim (rezorpsiyon) gücü fazladır. PGE1 ve PGE2 yeni kemik yapımını arttırır. PGF2 alfa, kondrogenezis ve kondroliziste etkilidir. Kemik geri emiliminde yer alan ajanlardan; EGF, transforme edici büyüme faktörü (TGF)-alfa, PDGF, bradikinin ve trombin etkilerini PGE2 aracılığıyla göstermektedir. PGF'nin de kemik gelişimini hızlandığı hakkında görüşler vardır. Nonprostanoid EP-2 reseptör selektif PGE-2' nin, rat modelinde lokal kemik yapımını arttırdığı ve kırık iyileşmesini hızlandığı görülmüştür.

b) Kemik uyarıcı faktörler: Farklılaşmamış mezanşimal hücrelerin mitozunu destekler ve yeni kemik hücrelerinin oluşumuna yol açarlar.

I- TGF-beta: Dönüştürücü büyüme faktörüdür. İltihap ve doku tamirinden sorumludur. Tüm hücreler moleküler formlarının birinde TGF-beta oluştururlar ve tüm hücreler bu faktörün reseptörüne sahiptir. En önemli kaynağı kemiğin hücre dışı matriksi ve trombositlerdir. TGF-beta kondrosit ile osteoblastlarda sentezlenir ve encondral kemikleşme sırasında hücre dışı matrikste birikir. Onarım zincirinde rol almak üzere trombositlerden de salınır. Makrofajlardan salınan en güçlü kemotaktik ajandır. Hücrenin integrin reseptörlerini uyarmak yoluyla hücre dışı matriks bileşenlerinden olan kollajen, fibronektin ve proteoglikanların oluşumunu artırır. Bağ dokusunda hasara yol açan proteolitik enzimleri baskılar. Sonuç olarak granülasyon dokusu oluşumuna etki eder.

II- Kemik kaynaklı morfojenik protein (BMP): Yaralanan kemik kaynaklı morfojenetik proteindir. Mitojenik ve dönüştürücü bir faktördür. Mezanşimal hücrelerin kırıkta ve kemik hücrelerine farklılaşmasına, ektopik kemik uyarımının artmasına neden olduğu ileri sürülmüştür (44,45). BMP 1-10 olmak üzere 10 alt grubu vardır. Bunlardan BMP-1, TGF-beta ailesinin alt grubuna bağlı değildir. BMP-7 osteojenik protein 1, BMP-8 ise osteojenik protein 2 olarak bilinir. BMP-2 osteoblastik aktiviteyi en çok etkileyen faktörüdür (46-49).

III- FDGF: Fibroblast kaynaklı büyüme faktörüdür. Kırıkta ve fibroblastlar için mitojeniktir (50). Kırıkta oluşumu aşamasında kallusu genişletir. Yüksek dozda kemik gerilimini artırır.

IV- PDGF: Trombosit kaynaklı büyüme faktörüdür. Fibroblast ve kemik hücreleri için mitojeniktir. Kırık sahasında yerel olarak bulunabildiği gibi kan dolaşımında da bulunmaktadır. Bağ dokusunda kollajen sentezini artırır. Fibroblast çoğalmasını, mezanşimal hücre mitozunu, monosit ve makrofajların kırık bölgesine göçünü artırır. PDGF uygulamasıyla kallus yoğunluğu ve hacmi artmıştır.

V- İnterlökinler: Makrofaj ve monosit kökenlidir. IL-1 fibroblast çoğalması, kollajenaz ve PGE2 üretimiyle ilgilidir. Ayrıca osteoklastlar üzerine etkiyle kemik geri emilimini de etkiler.

VI- Plazma Fibronektini: Yeni damar oluşumu için mitojeniktir.

VII- Somatomedin C: İskelet sistemi üzerinde büyüme hormonunun arasındadır. Kondroblastların bölünme ve farklılaşmalarını, ayrıca kemik matriksi oluşumunu uyarır.

VIII- EGF: Epidermal büyüme faktörüdür. Kemik geri emilimini hızlandırır.

IX- Kondrosit kaynaklı büyüme faktörü (CDGF): 2 tipi vardır ve Tip II kollajen ve hyaluronik asit için düzenleyicidir.

X- Makrofaj kaynaklı büyüme faktörü (MDGF): Ratlarda osteoblast benzeri hücreler ve kondrositler için mitojeniktir.

XI- Epidermal hücre kaynaklı büyüme faktörü (ECGF): Kıkırdak ve kemik için mitojeniktir.

XII- Endotelial hücre kaynaklı büyüme faktörü (ECDGF): Yeni damar oluşumu için mitojeniktir.

2.6.2. Lokal faktörler

2.6.2.1. Travmaya bağlı nedenler: Çok parçalı, açık ve kirli yaralanmalarda kırık iyileşmesi gecikmektedir. Eğer kırık sahasının kanlanması iyi değilse ve kırık fragmanları canlı değilse kallus oluşumunda problemler olacaktır. Kırığın deplase olması travmanın şiddetinin büyük olması kan dolaşımını bozarak kırık iyileşmesini olumsuz etkiler (12).

2.6.2.2. Tedaviye bağlı nedenler:

a) Tespit: Yeterli şekilde ve sürede tespit kırık kaynamasının temel prensibidir. Stabil bir fiksasyon kırık iyileşmesini arttırırken erken yük verilmesine olanak sağlayan tesbitler mikro hareketlerle kırık iyileşmesini olumlu yönde etkiler. Stabilizasyon yapılırken kanlanmayı olumsuz yönde bozan yumuşak doku ve kemikteki tahribat kaynamayı olumsuz yönde etkiler. Ultrasonun kırık iyileşmesindeki etkilerini ortaya koymak için birçok çalışma yapılmıştır. Klinik çalışmalarda ekstrakorporal şok dalgalarının uzun kemiklerde kırık iyileşmesinde etkili olduğu ve gecikmiş kaynama ya da kaynamama durumlarında faydalı olabileceği bildirilmiştir. Deneysel hayvan modellerinde aralıklı hiperbarik oksijen uygulamasının kırık iyileşmesini olumlu etkilediği bildirilmiştir.

b) Fiksasyon: Kemik kırık iyileşmesinde biyolojik internal tespit çok önemlidir. Kırık stabilizasyonu ve kemiğin biyolojik fonksiyonu arasında çok ince vital balans vardır. Bugünkü konsept kırık iyileşmesinde stabilite ve biyolojik integrasyon

arasında iyi balans sağlanmasıdır. Daha az zarar vermek redüksiyonu kusursuz yapmaya uğraşmamak ve daha az stabil fiksasyon sağlamaktan geçer. Atravmatik yaklaşım, kırık çevresindeki yumuşak dokuya zarar verilmemesi, bu da uygun cerrahi yaklaşımın seçilmesi ile olur. Kırık tedavi prensipleri günümüzde anatomi, stabilite, biyoloji ve mobilizasyondur. Bu prensiplerin aynı kalması ile birlikte, kırık tespitinde metod ve teknikler yeni implantların çıkması ile sürekli değişmektedir. Gelişen teknoloji kırık tedavisinin çok ötesine gitmiştir. Yanlış kırık bakımına bağlı ortaya çıkan komplikasyonlar, dejeneratif hastalıkların tedavisi, deformitelerin düzeltilmesi gibi problemler gittikçe yaşlı popülasyonun artışı ile daha çok önem kazanmaktadır. Kırık tedavisinde konvansiyonel intramedüller çividen kilitli çiviye, reamerizeden reamerize edilmeyen çivilemeye, plak tespitinde kesin tespitten (absolutely stable), göreceli (relatively stable) fiksasyona, kompresif plak fiksasyonundan kilitli internal tespite kırık iyileşmesini pozitif yönde etkileyen faktörlerdir.

2.6.2.3. Travma veya komplikasyonlara bağlı nedenler: Kemiklerde dejeneratif, metabolik, tümöral, enfeksiyon, radyasyon gibi nedenlere bağlı olarak kırılmaya eğilim artabilir ve ufak bir travma ile kırıklar gelişebilir. Kırılan kemik bölgesinde lokal malign tümörler ya da enfeksiyon varlığında bölgedeki malignite ve enfeksiyona ait hücreler nedeniyle kırık iyileşmesinde sorunlar yaşanabilir. Bu olgularda altta yatan sebebe yönelik sağaltım yapılmadan sağlıklı bir kırık iyileşmesi güç bir ihtimaldir. Mevcut patolojinin varlığına bağlı olarak iyileşme oranı ve süresi değişmekle birlikte osteoporoz gibi malign olmayan lezyonlarda kırık kaynamasına osteoporozun olumsuz etkisi olmadığı belirtilse de kaynama yüzey miktarındaki azlıktan dolayı kırık bölgesinin sağlamlaşmasında süre daha fazla olarak saptanır. Tüberküloz, bruselloz gibi enfeksiyöz olaylarda kırık sahasındaki hiperemi nedeniyle kalsiyum tuzlarının çözünmesi etkilenir, artan lökositlerin proteolitik enzimleri matriksin bozulmasına neden olur ve osteoid oluşumu engellenir.

2.6.2.4. Enfeksiyon: Enfeksiyonun kırık iyileşmesindeki olumsuz etkileri ile nonuniona sebep olduğu bilinen bir gerçektir. Enfeksiyöz materyal fibröz kallus oluşumunu engeller. Bu olgularda enfeksiyon kontrol altına alınabilirse sahada

yoğun kollajen skarın oluştuğu bildirilmiştir. Enfeksiyon kırık bölgesine eksojen olarak açık yaralanmalarla, iatrojenik olarak cerrahi müdahalelerle çok ender olarak da sistemik infeksiyonun kırık bölgesine gelmesi ile oluşabilir. Enfeksiyon kırık bölgesindeki granülasyon ve kemikleşme evrelerindeki dokuları olumsuz etkileyerek ve enfeksiyöz nedbe dokusu geliştirerek kırık iyileşmesini olumsuz etkiler.

2.7. Renin anjiotensin sistemi

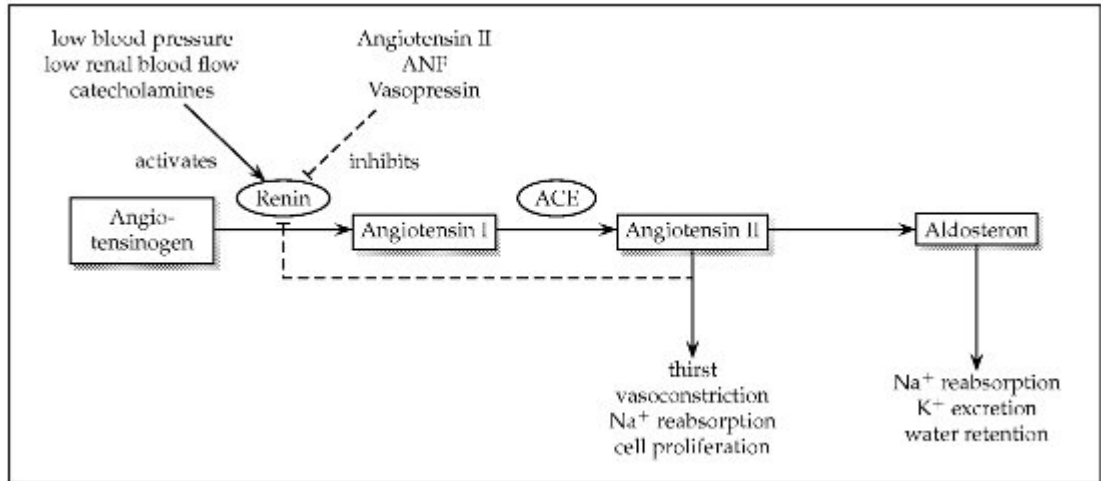
RAS, sıvı hacminin düzenlenmesinde önemli rol oynayan ve bu yolla kan basıncını etkileyen bir sistemdir (51,52).

2.7.1. Sistemik renin anjiotensin sistemi

Böbreklerdeki jukstaglomerüler aparattan salınan renin dolayan kandaki anjiotensinojen'den anjiotensin peptidleri oluşturur. Hormonal fonksiyonu esas Ang II yapar. Plazma renin ve anjiotensin düzeyi sadece sistemik RAS'ın etkinlik düzeyini yansıtır.

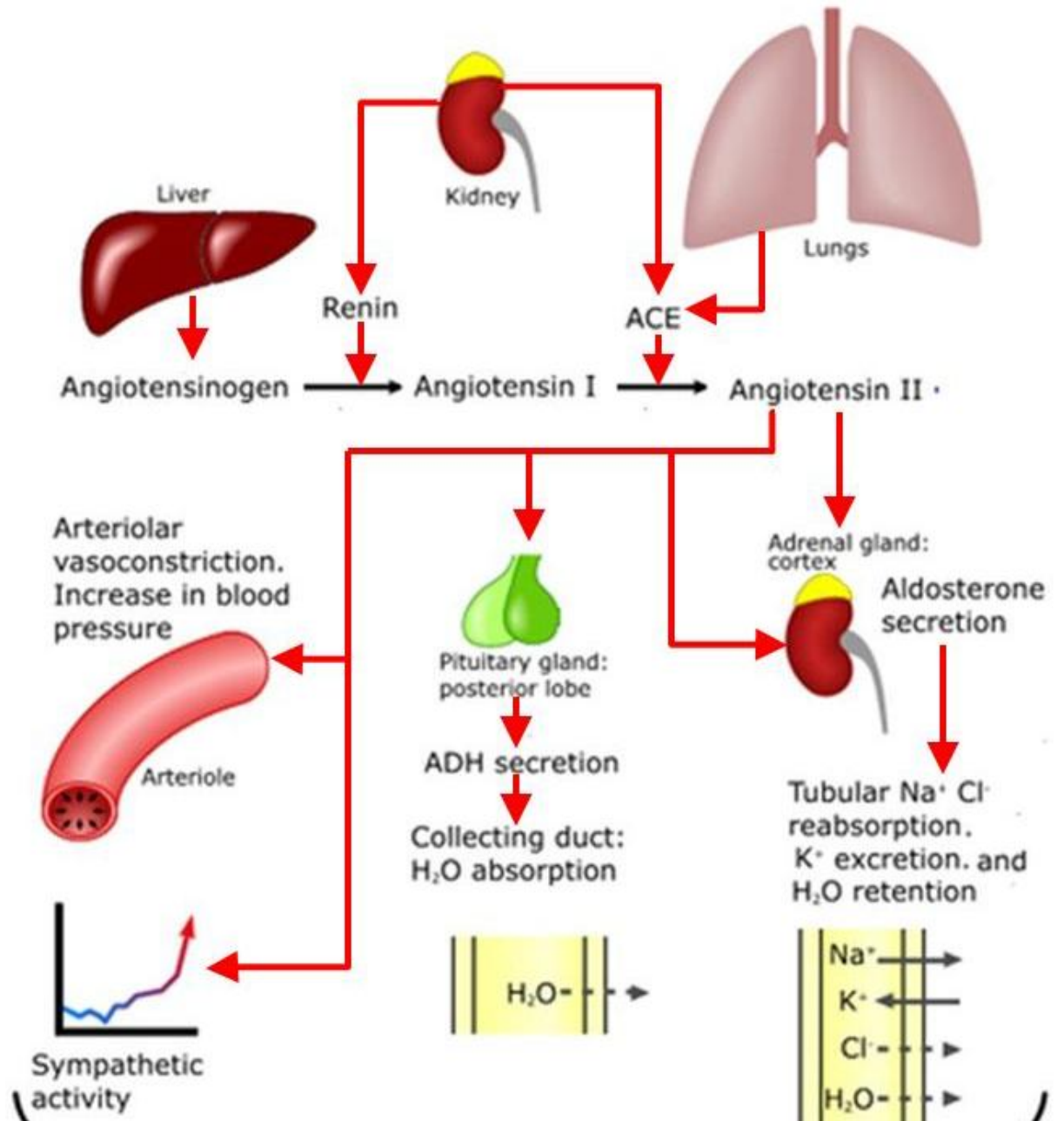
2.7.2. Lokal renin anjiotensin sistemi

En yoğun olarak böbrekte bulunur. Bu sistem plazmadan aldığı böbrek kaynaklı renini kullanır. Böbrek damar yatağı rezistansının uzun süreli düzenlenmesine katkıda bulunur (53). Renin, böbrek afferent arteriolünün düz kas hücreleri arasındaki granüler hücreler tarafından sentezlenen ve jukstaglomerüler hücrelerce depolanan ve salınan, dolaşımdaki yarı ömrü ortalama 20 dakika olan glikoprotein yapıda enzimdir. Renal kan akımı ve perfüzyon basıncı değişikliği, vücut pozisyonu, beta adrenerjik aktivite artışı, macula densa'ya ulaşan sıvı ve Na⁺ azalması, vücut sıvı-elektrolit denge bozukluğu ve çeşitli ilaçlar (diüretikler vb.) renin salınımını etkiler. Renin prorenin seklinde salgılanır. Hageman faktörü gibi prokalikrein aktivatörleri ve çeşitli proteazlarla aktive olur. Anjiotensinojen, karaciğerde ve az miktarda da böbrek tübölüs hücrelerinde yapılan alfa-2 globulindir. Plazma yarı ömrü 4-16 saat olan anjiotensinojen, aktif renin tarafından anjiotensin I'e (Ang I) dönüştürölür. Ang I, inaktif prohormon yapısında bir glikoprotein olup, plazma yarı ömrü 1-2 dakikadır. Ang I'in, yaklaşık % 90'ı akciğerlerin vasküler endotelindeki Angiotensin Converting Enzim (ACE) ile Angiotensin II (Ang II) ye dönüşür.



Şekil 5. Renin Angiotensin Aldosteron Sistemi.

ACE, akciğerler başta olmak üzere beyin, testis, böbrek vb. dokularda; plazma, semen gibi fizyolojik sıvıların yanı sıra, makrofajlar ile kan damarlarında önemli oranlarda bulunur. ACE-2, ACE'nin homologudur. Vasküler ve myokardiyal fizyolojide merkezi bir rol oynar (54). Yapılan çalışmalarda, ACE ile ACE-2'nin biyokimyasal ve farmakolojik olarak birbirinden farklı oldukları saptanmıştır.



Şekil 6. Renin Anjiotensin Sisteminin komponentleri

2.7.3. Doku renin anjiotensin sistemi

Yaklaşık % 10-20'si plazmada olan RAS'ın, % 80-90'ı dokularda bulunmaktadır. Pulmoner damar yatağı dışındaki ACE dışı diğer peptidazların etkisi ile böbrek damar endoteli, karaciğer, kalp, sürrenal korteks ve beyinde Ang II oluşmaktadır.

Dolaşımdaki RAS, endokrin etki göstererek kan basıncında akut

değişikliklere yol açar. Dokudaki RAS ise otokrin ve parakrin etkiler ile vasküler yapı ve fonksiyonlarda uzun süreli değişikliklere yol açar. Bu nedenle hipertansiyon gelişiminin yanı sıra vasküler ve kardiyak hipertrofi oluşumu, renal hasar gibi değişikliklere neden olmaktadır.

Lokal Ang II endotelial fonksiyon üzerine direkt etki gösterir. Endotel damar tonusu, koagülasyon, hücre büyümesi ve ölümü ile lökosit migrasyonundan sorumludur ve bunlar vazodilatatör (NO gibi) ve vazokonstriktörler (Ang II gibi) arasındaki dengeye bağlıdır.

2.7.4. Renin anjiotensin sisteminin farmakolojik etkileri

Anjiotensinler içinde en fazla inceleneni Ang II'dir. Bu madde vazokonstriktör maddedir. Arteriyelleri ve prekapiller sfinkterleri büzerek total periferik damar rezistansını artırır böylece kan basıncı yükselir. Venler üzerine etkisi zayıftır. Yüksek dozda, SSS'de stimulan etkisi ve periferde adrenerjik sinir uçlarından noradrenalin salıverilmesini arttırması da kan basıncının yükselmesine katkıda bulunur. Ang II, mitojenik etkiyle damar ve myokard lezyonlarından sonra meydana gelen "remodeling" yani doku kitlesinin yeni kalıba göre dağılımı olayına da katkıda bulunur.

2.7.5. Anjiotensin reseptörleri

Ang II, RAS'ın esas efektörüdür. Ang II için AT1 ve AT2 isimli birbirinden farklı iki reseptör alt tipi tanımlanmıştır. Fizyolojik etkilerinin çoğuna AT1 reseptörü aracılık eder (53).

2.7.5.1. AT1 reseptörleri: AT1 reseptörleri, adrenal korteks, beyin, böbrek glomerülü, damar düz kasları, kalp, karaciğer, yağ dokusu, trombositler, uterus ve plasenta'da yaygın olarak bulunur (55-57). Ang II nin AT1 reseptörleri üzerinden yaptığı etkiler;

- Vazokonstrüksiyon
- Dipsojenik etki
- Direkt Na⁺ ve su tutulumu
- Myokard üzerine pozitif inotropik etki

- Miyosit ve vasküler düz kas hücre hipertrofisi
- Hücre proliferasyonu
- Renal kan akımını düzenleme
- Oksijen radikallerinin artması
- Antidiürezis
- Büyüme faktörleri artışı
- Fibröz doku oluşumu

2.7.5.2. AT2 reseptörleri: Bu reseptörler, adrenal bez, kalp, beyin, miyometriyum, fetus ve hasarlı dokuda bulunurken böbreklerde bulunmazlar. AT2 reseptörünün vazodilatasyon yapıcı etkisi vardır (57). Ayrıca bu mediyatörler angiogeneziste de rol alırlar (58). AT2 reseptör aktivasyonu, bradikinin, NO ve PG üretimine yol açar (59). Bu reseptörlerin apoptozis yani programlanmış hücre ölümünü düzenlediği belirtilmiştir (56). Ang II, AT2 reseptörleri ile şu etkileri oluşturmaktadır;

- Vazodilatasyon
- Hücre proliferasyonunun inhibe edilmesi
- Hücre farklılaşması
- Apoptozisin uyarılması

2.7.6. Anjiotensin antagonistleri

Anjiotensin oluşumunu veya etkisini bloke etmek için üç yol vardır. Bunlar;

- a. Renin'in inhibe edilmesi: Renin, penstatin adı verilen bir pentapeptid ile inhibe edilir. Etkinlikleri düşüktür.
- b. Anjiotensin Converting Enzim İnhibisyonu: ACE inhibitörleri, anjiotensin I'i anjiotensin II'ye çeviren anjiotensin converting enzimi bloke ederler. Bu enzimin inhibisyonu, plazma ve dokularda Ang II düzeyinin azalmasına neden olur. Ang II düzeyinin azalması, hem arteriyollerde hem de venüllerde vazodilatasyona, total periferik damar rezistansının azalmasına ve böylece kan basıncının düşmesine neden olur. ACE inhibitörlerinin, diüretiklere, beta-blokörlere ve diğer sempatotolitik ilaçlara göre, hemodinamik etkilerinin özelliği ve yan etkilerinin daha az olması bakımından üstünlükleri vardır. Kalp debisini düşürmezler ve kalp hızında belirgin bir değişim yapmazlar. ACE inhibitörleri; kalp, beyin ve böbrek kan akımını azaltmazlar. ACE

inhibitörlerinin en önemli kardiyovasküler endikasyonlarından biri de konjestif kalp yetmezliğidir. Özellikle sol ventriküler sistolik disfonksiyonda uygulanacak ilk tedavi ACE inhibitörleridir (60).

c. Anjiotensin Reseptörlerinin Bloke Edilmesi: Anjiotensin converting enzim inhibitörleri ile tedavi sırasında kuru öksürük, anjiyoödem gibi yan etkilerin ortaya çıkması, Ang II'nin ACE'nin dışında diğer yollarla da oluşması Ang II etkilerini önleyen yeni tedavi arayışları getirmiş ve Anjiotensin'in etkilerinin reseptör düzeyinde bloke edilmesi ile ilgili çalışmaları başlatmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda AT1 reseptörlerini selektif olarak bloke eden SARTAN grubu ilaçlar geliştirilmiştir. Anjiotensin Reseptör Blokörleri; anjiotensin ile yarışmaya girerek onun reseptöre bağlanmasını ve dolayısıyla etkilerini terapötik konsantrasyon aralığında yarışmalı (kompetitif) şekilde antagonize ederler (61). ACE inhibitörlerinin aksine, öksürük ve anjiyoödem yapma olasılıkları düşüktür.

3.MATERYAL VE METOD

Deneyssel çalışmamızda ACE inhibitörleri ve ARB' lerin rat femur kırık iyileşmesi üzerine etkilerini araştırdık. Bu deneyssel çalışma, Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra Ekim 2012 ve Aralık 2013 tarihleri arasında Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Laboratuvarı, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı, Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yapıldı.

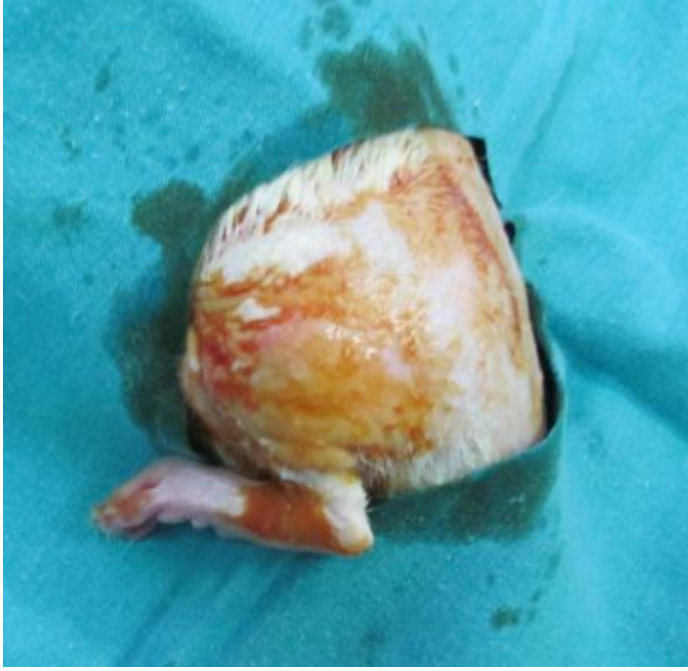
Çalışmaya denek olarak Ortalama 300 gr ağırlığında Wistar Albino cinsi 108 erişkin erkek rat dahil edildi. Ratlar oda sıcaklığında sekizerli gruplar halinde kafeslere yerleştirilerek istedikleri kadar standart rat yemi ve su ile beslendi. Çalışma süresi boyunca rat kafesleri 4 günde bir düzenli olarak temizlendi. Ardından ratlar 36'şarlı 3 ana gruba ayrıldı. İlk gruba günlük ihtiyaçlarını karşılayacak kadar ilaç katılmamış içme suyu verildi. İkinci grubun içme suyuna 10 mg/kg dozunda Enalapril (Enapril® ,Sandoz, Kocaeli, Türkiye) katıldı. Üçüncü grubun içme suyuna ise 10 mg/kg dozda Losartan (Cozaar®, Merck, ABD) katıldı (Tablo 1).

Tablo 1. Deney grupları ve sayıları

Gruplar	Kontrol	ACE inhibitörü (Enalapril)	ARB (Losartan)
Denek Sayısı	36	36	36

3.1. Cerrahi Teknik

Her bir deneğin ağırlığı elektronik tartı ile tartılarak anestezi ilaç dozu hesaplandı. Ratlara deneyin ilk günü 50 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar ®, Pfizer-USA) intraperitoneal olarak sol kasık bölgesinden verilerek anestezi uygulandı. Ratlar sağ yan pozisyonunda yerleştirildi. Cerrahi alan traş edildi. Betadine scrub (10% povidoneiodine, Merkez-Türkiye) solüsyonu ile lokal saha temizliği yapıp ratlarda steril alan oluşturuldu.



Resim 1. Ratın uyluğunun ameliyat için hazırlanması.

Uygun saha temizliği ve örtümü sonrasında sol uyluk cildi lateralden longitudinal insizyonla yaklaşık 2 cm açıldı. Fasialar geçildi ve kas yapılarına ulaşıldı. Femur diafizinin tam ortasına gelecek şekilde yumuşak dokular kemikten sıyrıldı.



Resim 2. Cilt insizyonu



Resim 3. Yumuşak dokuların ekartasyonu sonrasında femurun görüntüsü.

Femurun orta 1/3 lük diafiz kısmı ortaya konduktan sonra bu bölgeden elektrikli testere yardımıyla osteotomize edildi.



Resim 4. Femur cisminde transvers kırık oluşturulması.

Kırık hattından distale doğru antegrad olarak 1 mm'lik Kirschner teli diz hiperfleksiyondayken nazıkçe ilerletildi ve patellar ligamentin medialinden çıkması sağlandı.



(A)



(B)

Resim 5. A) Kirschner telinin intramedüller olarak antegrad yerleştirilmesi
B) Kirschner telinin diz bölgesinden dışarı çıkarılması.

Kirschner teli distale doğru çekildi ve kırık hattı redükte edildikten sonra retrograd olarak proksimale doğru ilerletildi. Sertleştiği yerde yaklaşık 2 mm ilerletilip geri çekilen kirschner teli, tel makasıyla diz bölgesinden kesildi. Ardından telin tamamının gömülmesi için başka bir telin ucuyla tekrar ilerletilerek fiksasyon tamamlandı. Cilt 3/0 prolen ile kapatıldı. Sonrasında yara yeri batikon ile temizlenerek rat cerrahi masasından alındı.



Resim 6. Uyluğun cilt kapatıldıktan sonraki görüntüsü.

Yapılan cerrahi işlemin ardından ratlar normal beslenme ve yaşam koşullarına bırakıldı. Anestezinin etkisi geçtikten sonra, ratların kırık ekstremitesine yük vermesinde herhangi bir kısıtlamaya gidilmedi. Cerrahi işlem sonrasında subkutan yolla 15 mg/kg dozunda Tramadol (Ultrameks® ADEKA, Samsun, Türkiye) analjezik olarak verildi.

Cerrahi sonrası 2. haftada her gruptan 12 adet rat rastgele seçilerek anestezi uygulandıktan sonra servikal dislokasyon yapılarak kurban edildi. Ratların sol femurlarına kalçadan ve dizden dezartikülasyon uygulandı. Ratların sol femurlarının ön-arka röntgen grafileri çekildikten sonra yumuşak dokuları diseke edildi. Her gruptan 12'şer adet rat femuru histolojik değerlendirme için hazırlanmak üzere % 10'luk formaldehitin içine koyuldu.

Cerrahi sonrası 5. haftada gruplardaki tüm ratlar anestezi uygulandıktan sonra servikal dislokasyon yapılarak kurban edildi. Ratların sol femurlarına kalçadan ve dizden dezartikülasyon uygulandı. Ratların sol femurlarına Röntgen grafileri çekildikten sonra yumuşak dokuları diseke edildi. Her gruptan 10'ar adet rat femuru histolojik değerlendirme için hazırlanmak üzere % 10'luk formaldehitin içine koyuldu. 10' ar adet femur ise Biyomekanik çalışma yapmak amaçlı ayrıldı.

Çalışma süresince enfeksiyon, ölüm, tespit yetersizliği gibi nedenlerle toplamda 12 adet rat deney dışı bırakıldı.

3.2. Radyolojik İnceleme

Ratlar servikal dislokasyon yapılarak sakrifiye edildikten sonra kalça ve diz eklemlerinden dezartiküle edilen sol femurlar yumuşak dokularından sıyrıldıktan sonra Röntgen kasetlerine yerleştirilerek direkt grafilere çekildi. Görüntüler Lane–Sandhu radyolojik puanlama sistemine göre skorlandı (Tablo 2) (62). Skorlama, çalışmadan bağımsız ve gruplardan habersiz iki ayrı Ortopedist tarafından yapıldı.

Tablo 2. Lane-Sandhu puanlama sistemi (62)

	Puan
Kemik oluşumu	
Kemik oluşumunun olmaması	0
Kemik oluşumunun defektin %25’ni doldurması	1
Kemik oluşumunun defektin % 50’ni doldurması	2
Kemik oluşumunun defektin % 75’ni doldurması	3
Kemik oluşumunun defektin tamamını doldurması	4
Kaynama	
Bariz kırık görülmesi	0
Kısmi kırık görülmesi	2
Kırık hattının görülmemesi	4
Yeniden yapılanma	
Yeniden yapılanmanın görülmemesi	0
Medüller kanalın yeniden yapılanması	2
Korteksin tamamen yeniden yapılanması	4

3.3. Histolojik İnceleme

Radyolojik incelemelerin ardından tüm deneklere ait femurlar %10’luk formol solüsyonunda iki hafta süre ile fikse edildi. Fiksasyonun ardından örnekler %10’luk EDTA solüsyonunda iki hafta süre ile dekalsifiye edildiler. Parafin bloklara gömülen örneklerden 4-5 µm kalınlığında longitudinal kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen-Eosin ve Masson’un üçlü boyaları ile boyandı. İyileşmenin histolojik olarak skorlaması ışık mikroskobu altında Huo ve arkadaşlarının yayınladığı histolojik kırık iyileşme skorlamasına göre yapıldı (63) (Tablo 3).

Tablo 3. Kırık iyileşmesinin histolojik değerlendirilmesinde kullanılan skorlama kriterleri

Skor	Kırık bölgesi histolojik bulguları
1	Fibröz doku
2	Ağırlıklı fibröz doku ve az oranda kıkırdak doku
3	Eşit miktarda fibröz doku ve kıkırdak doku
4	Kıkırdak doku
5	Ağırlıklı olarak kıkırdak ve az miktarda immatür kemik
6	Eşit oranda kıkırdak ve immatür kemik
7	Ağırlıklı olarak immatür kemik ve az oranda kıkırdak
8	Tamamen İmmatür kemik
9	İmmatür kemik ve az miktarda matür kemik
10	Matür (lamellar) kemik

3.4. İstatistiksel İnceleme

İstatistiksel değerlendirme SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Sayısal değişkenler bakımından üç grubun karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı. Kruskal-Wallis varyans analizinden sonra alt grupların ikişerli karşılaştırılması ise Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi ile yapıldı ve $p<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. B U L G U L A R

4.1. Radyolojik Bulgular

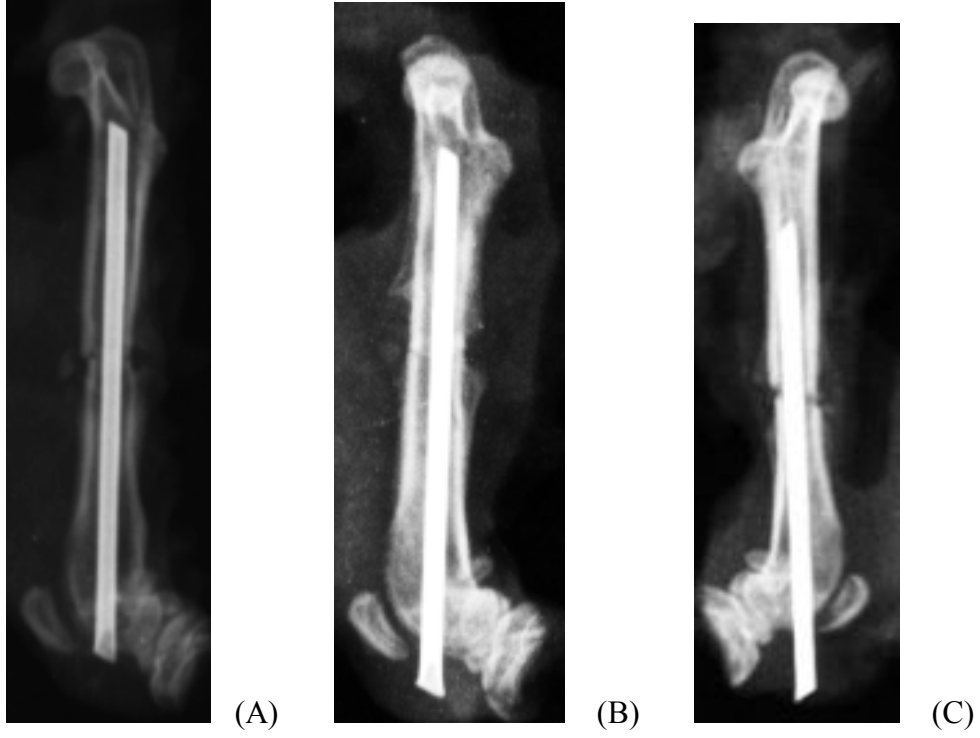
2. hafta kontrol grubundaki deneklerin kırık hattında kallus oluşumu gözlenmemektedir. ACE inhibitörü ve ARB gruplarındaki deneklerin hepsinde gruplar arasında yüzde farklılıkları olmakla birlikte kallus oluşumu mevcuttur ancak kırık hattı gözlenebilmekte, korteks veya medullada yeniden yapılanma görülmemektedir (Resim 7). 2. hafta radyolojik ölçümleri bakımından, 3 grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.001$). Ardından Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi ile yapılan ikili grup karşılaştırmalarında; Kontrol grubu skoru, ACE inhibitörü grubuna göre anlamlı derecede düşük ($p=0.003$) ve Kontrol grubu skoru, ARB grubuna göre anlamlı derecede düşük ($p=0.003$) iken ACE inhibitörü grubu ile ARB grubu arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0.796$).

5. haftada kontrol grubundaki tüm deneklerde artmış bir kallus oluşumu mevcuttur ancak kırık hattı bariz görülmektedir. ACE inhibitörü verilen grupta kemik oluşumu kırık hattının tamamını doldurmuş, medullanın yeniden yapılanması tamamlanmıştır. ARB verilen grupta ise kemik oluşumu kırık hattının % 50-% 75'ini doldurmuş, kırık hattı kısmi olarak görülebilmekteydi (Resim 8). Kruskal-Wallis varyans analizinde, gruplar arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.001$). Ardından yapılan ikili grup karşılaştırmalarında; Kontrol grubu skoru ACE inhibitörü grubuna göre anlamlı derecede düşük ($p=0.001$), Kontrol grubu skoru ARB grubuna göre anlamlı derecede düşük ($p=0.001$) iken, ACE inhibitörü grubu ile ARB grubu arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0.796$) (Tablo 4).

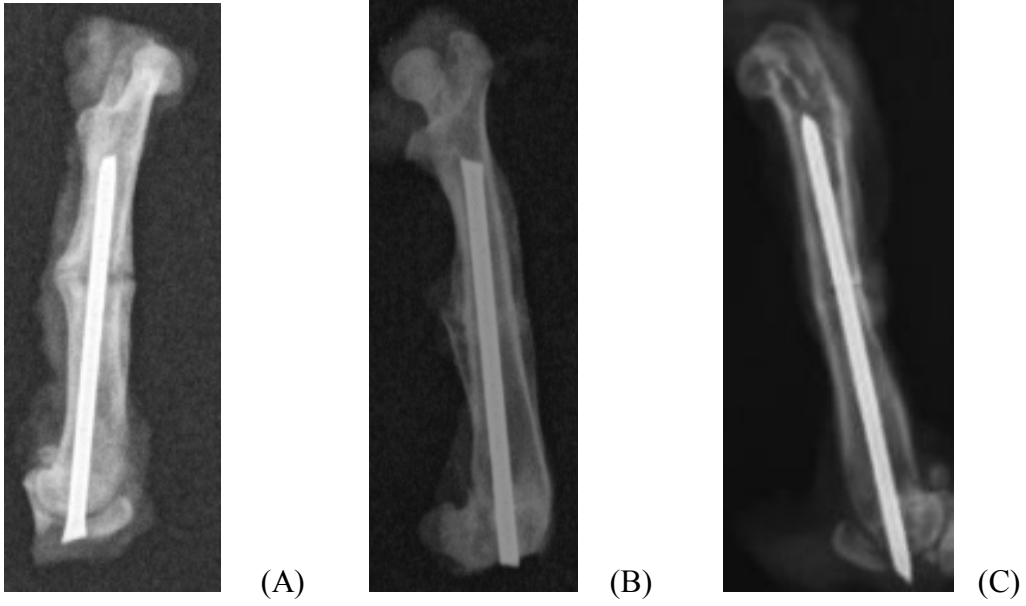
Tablo 4. 2. ve 5. hafta radyolojik değerlendirme skorları

	2. hafta			5. hafta		
Gruplar	Kontrol	ACE	ARB	Kontrol	ACE	ARB
Radyolojik Skorlar	0.80±0.42	1.80±0.63	1.90±0.73	1.67±0.50	2.89±0.60	1.89±0.60
p*	0.001			0.001		

* Kruskal-Wallis varyans analizi



Resim 7. (A) 2. Hafta Kontrol Grubu (B) 2. Hafta ACE Grubu (C) 2. Hafta ARB Grubu



Resim 8. (A) 5. Hafta Kontrol Grubu (B) 5. Hafta ACE Grubu (C) 5. Hafta ARB Grubu

4.2. Histolojik Bulgular

Radyolojik ve klinik incelemeyi takiben tüm gruplarda yer alan deneklerin femurları histolojik incelemeler için işlemlendirildi (Resim 9,10). Her bir femurdan longitudinal olarak dört adet kesit alındı. Her bir kesit Huo ve arkadaşları tarafından belirtilen kriterler göz önünde bulundurularak skorlandı. Kırık oluşumundan 2 hafta sonra yapılan incelemelerde; ACE inhibitörü grubunda yer alan deneklerin ortalama skoru 2.13, ARB grubunda yer alan deneklerin ortalama skoru 2.63 ve Kontrol grubunda yer alan deneklerin ortalama skoru 1.38 olarak tespit edildi. Kırık oluşumundan 5 hafta sonra yapılan incelemelerde; ACE inhibitörü grubunda yer alan deneklerin ortalama skoru 7.70, ARB grubunda yer alan deneklerin ortalama skoru 5.88 ve Kontrol grubunda yer alan deneklerin ortalama skoru 5.00 olarak tespit edildi.

Kruskal-Wallis varyans analizine göre, 2. hafta kesitlerinin histolojik inceleme skorları arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.015$). Ardından yapılan ikili grup karşılaştırmalarında; Kontrol grubu skoru, ARB grubuna göre anlamlı derecede düşük ($p=0.007$) olmakla birlikte, Kontrol grubu skoru, ACE inhibitörü grubuna göre

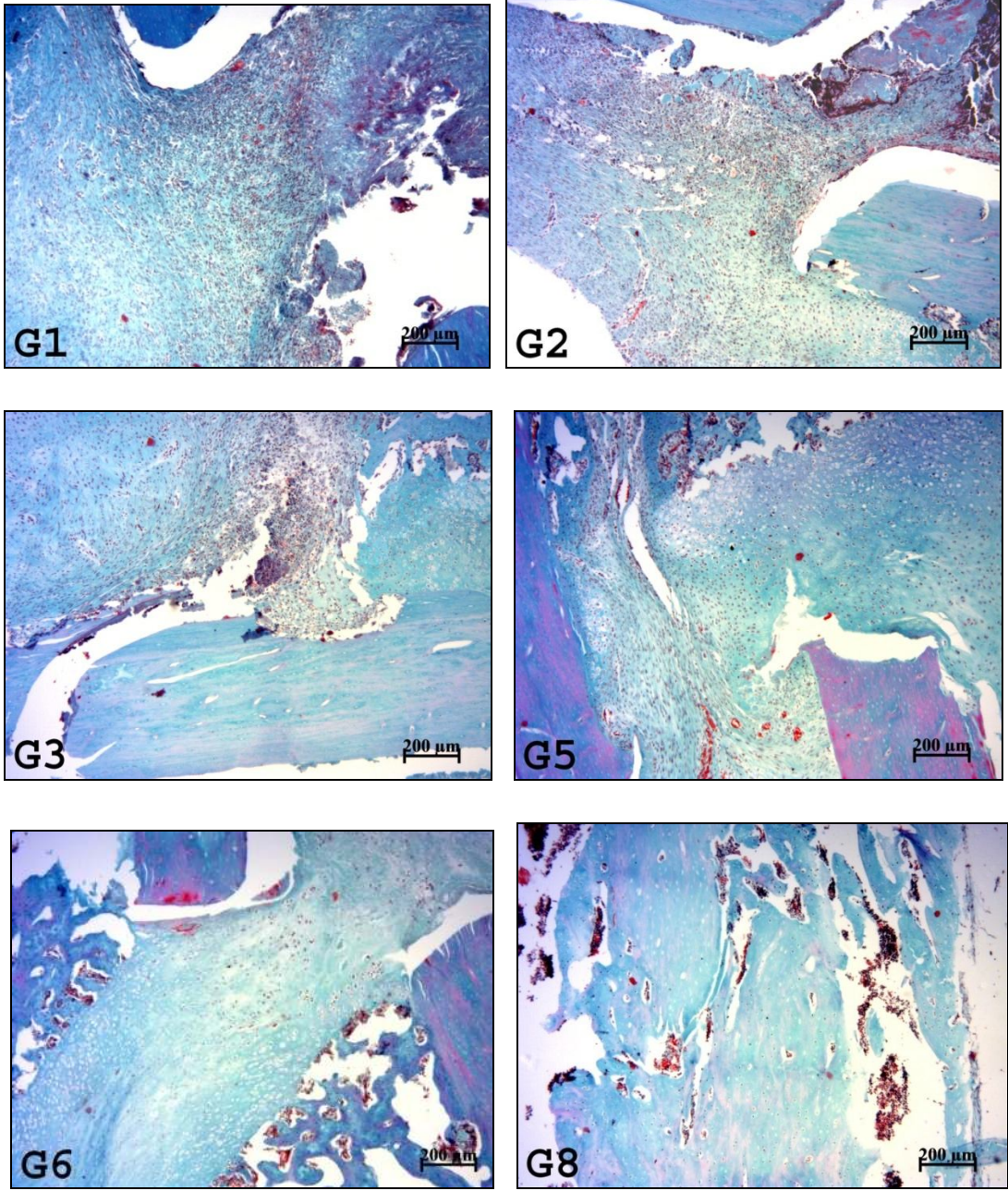
anlamli değildi ($p=0.105$) ve ACE inhibitörü grubu skoru, ARB grubuna göre anlamli değildi ($p=0.279$) (Tablo 5).

5. hafta kesitlerinin histolojik inceleme skorları kullanılarak yapılan Kruskal-Wallis varyans analizine göre; gruplar arasındaki fark anlamli bulundu ($p=0.001$). Ardından yapılan ikili grup karşılaştırmalarında; Kontrol grubu skoru, ACE inhibitörü grubuna göre anlamli derecede düşük ($p<0.001$) ve ACE inhibitörü grubu skoru, ARB grubuna göre anlamli derecede düşük ($p=0.796$) iken Kontrol grubu skoru ile ARB grubu arasındaki fark anlamli değildi ($p=0.195$) (Tablo 5).

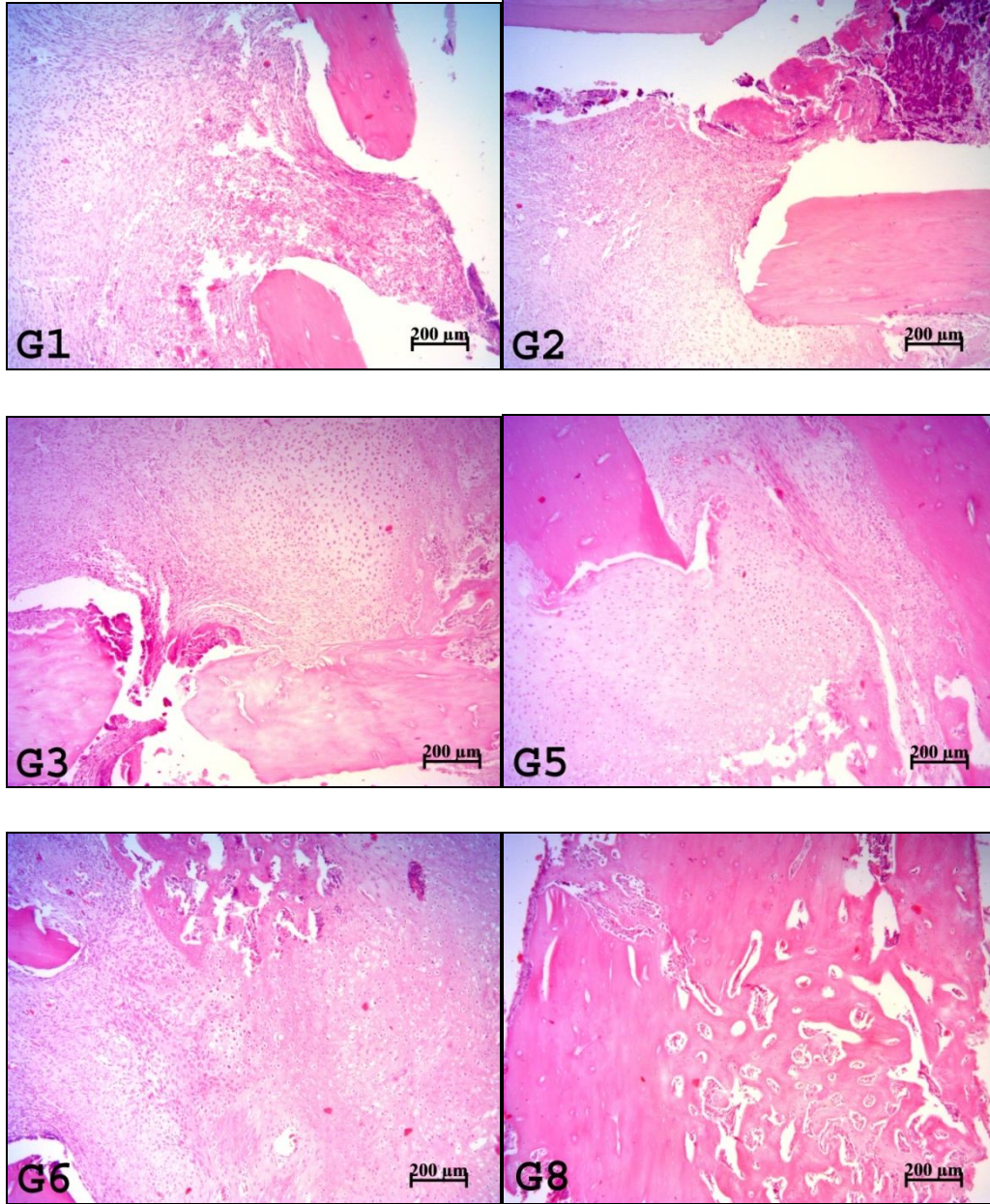
Tablo 5. 2. ve 5. hafta histolojik değerlendirme skorları

	2. hafta			5. hafta		
Gruplar	Kontrol	ACE	ARB	Kontrol	ACE	ARB
Histolojik Skorlar	1.38±0.74	2.13±0.83	2.63±0.51	5.00±0.75	7.70±0.48	5.88±1.64
p*	0.015			0.001		

* Kruskal-Wallis varyans analizi



Resim 9. Rat femurlarının histolojik kemik iyileşme skorlarını yansıtan Masson'un üçlü boyaması uygulanmış preparat görüntüleri. G1: Fibröz doku. G2: Ağırlıklı fibröz doku ve az oranda kıkırdak doku. G3: Eşit miktarda fibröz doku ve kıkırdak doku. G5: Ağırlıklı olarak kıkırdak ve az miktarda immatür kemik. G6: Eşit oranda kıkırdak ve immatür kemik. G8: Tamamen immatür kemik. Bar:200 µm.



Resim 10. Rat femurlarının histolojik kemik iyileşme skorlarını yansıtan Hematoksilen-Eozin uygulanmış preparat görüntüleri. G1: Fibröz doku. G2: Ağırlıklı fibröz doku ve az oranda kıkırdak doku. G3: Eşit miktarda fibröz doku ve kıkırdak doku. G5: Ağırlıklı olarak kıkırdak ve az miktarda immatür kemik. G6: Eşit oranda kıkırdak ve immatür kemik. G8: Tamamen immatür kemik. Bar:200 µm.

5. TARTIŞMA

Dıştan ya da içten gelen kuvvetler sonucunda kemiğin anatomik bütünlüğünde bozulma olmasına kırık denir (64). Her yıl milyonlarca insan kas iskelet sistemi yaralanmasına maruz kalmakta ve bunların yaklaşık %20'sinde kırık oluşmaktadır. Bütün kırık olgularında kırık iyileşmesi istenildiği gibi olmamakta, kaynama gecikmesi veya kaynamama görülebilmektedir (1). Kırık oluştuktan sonra çeşitli fizyolojik olaylar silsilesi ile kemik bütünlüğü yeniden sağlanmaya çalışılır. Çoğu dokudan farklı olarak kemik dokusu skar bırakmadan aslına en yakın şekilde iyileşir (65,66). Kırık iyileşmesi kırığın olduğu andan itibaren başlar ve kemik tekrar eski halini alıncaya kadar devam eder (64).

Kırık iyileşmesi; 3 dönemde gerçekleşir; inflamasyon, onarım ve remodelasyon (69). Bu iyileşme sürecinde hem kemiği çevreleyen yumuşak doku, hem de medulla aktif olarak rol oynar (67,68,70). Tekrarlayan tedavi gereksinimleri, işgücü kaybı, morbidite artışı ve tedavi maliyetlerinin artması nedeniyle kırık iyileşme sürecini hızlandırmak, kaynama oranlarını en üst düzeye çıkararak kişiyi en kısa sürede normal hayatına döndürmek için birçok yöntem ve ilaç denenmiş ve bir kısmı klinikte kullanım alanı bulmuştur. Kırık iyileşmesi hücrelerin, büyüme faktörlerinin ve ekstrasellüler matriksin birbirleriyle mükemmel işbirliğini kapsayan, iskelet büyüme ve gelişmesini özetleyen bir süreçtir (1,71). Hücresel düzeyde inflamatuvar hücreler, vasküler hücreler, osteokondral progenitör hücreler ve osteoklastlar onarım sürecinde önemli rol oynarlar. Moleküler düzeyde ise proinflamatuvar sitokinler, büyüme faktörleri, proosteojenik faktörler ve anjiogenik faktörler kırık onarımında önemli rol oynarlar (72).

Hipertansiyon ve osteoporoz yaşlılarda görülen iki önemli kronik hastalıktır. Bu hastalıklar kalsiyum metabolizma bozuklukları, üriner kalsiyum atılımı artışı, D vitamini yetersizliği ve kemik mineral dansitesindeki azalma ile ilişkilidir (74). Tüm bu nedenlerden ötürü yaşlı popülasyonda kırık görülme riski artmıştır. Son yıllarda kırık iyileşmesi konusunda birçok çalışma yapılmıştır. ACE inhibitörleri bu karmaşık durum için efektif bir iyileştirici olarak ön plana çıkmaya başlamıştır.

RAS' ın dokular üzerindeki etkileri, hem lokal oluşturulan hem de sistemik dolaşımda bulunan ang II üzerinden olmaktadır. Lokal RAS komponentleri beyin, kalp, kan damarı gibi vücut dokularında gösterilmiştir (75). Lokal RAS inflamasyon, rejenerasyon, apoptozis, hücre büyümesi ile ilişkili bulunmuştur (76). Bununla birlikte kemik dokuda bulunan lokal RAS' ın bu dokunun metabolizması üzerindeki etkileri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

Ang II 'nin birçok dokuda büyüme faktörü olarak etki etmesinin yanısıra kemik dokunun lokal olarak RAS'ın varlığının bilindiği endotelden zengin olması, RAS' ın kemik metabolizması ile olan ilişkisinin araştırılmasına neden olmuştur. RAS sisteminde ACE, ang II oluşumunda rol alan efektör moleküldür. Yapılan farklı çalışmalar da osteblastlar ve osteoklastlar üzerinde farklı RAS komponentlerinin eksprese olduğu gösterilmiştir (3,4,77). Ang II kendine has reseptörleri olan AT-1 ve AT-2 reseptörlerine bağlanarak osteoblastik hücre fonksiyonlarını etkilemektedir. Bu reseptörlerin uyarılmasıyla kemik dokudaki osteoblastik aktivite azalmakta, kemik rezorbsiyonu artarken, kalsiyum emilimi azalmaktadır (77). Kemik büyüme plaklarındaki endokral kemikleşme sahalarında bulunan osteoblastlar üzerinde, ACE başta olmak üzere RAS komponentlerinin ekspresyonu gösterilmiştir (84). Hatton ve ark. ang II'nin osteoklastlar üzerine olan etkisini araştırmışlar ve ang II 'nin izole olarak osteoklastların sayısını ve rezorbsiyon fonksiyonlarını artırmadığını saptamışlardır (4). Ancak anjiotensin II'nin osteoklastların osteoblastik hücrelerle birlikte kültür ortamına konduğu koşulda rezorbsiyonu artırdığını göstermişlerdir. Bu çalışmada ortama ACE inhibitörlerinin eklenmesi ile bu etkinin ortadan kalkması kemikte lokal bir Renin Anjiotensin Sistemi (RAS) varlığı ihtimalini desteklemiştir.

Yaptığımız çalışmada ratlarda açık osteotomi yapılarak oluşturulan femoral kırık modeline yönelik intramedüller tespit yapılması sonrasında ratlara oral yolla ACE inhibitörü olan Enalapril ile ARB olan Losartan verildi. Ardından 2 ve 5. haftalarda sakrifikasyon yapılması sonrasında kırık iyileşmesi radyolojik ve histolojik olarak değerlendirildi. Yapılan radyolojik ve histolojik değerlendirmeler sonucunda 2. haftada görülen kırık iyileşmesinin ARB verilen grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede fazla olduğu saptandı. 5. haftada görülen kırık iyileşmesinde ise ACE inhibitörü grubunda Kontrol ve ARB grubuna kıyasla anlamlı

farklılık elde edilirken ARB grubunda Kontrol grubuna göre anlamlı farklılık elde edilmedi.

Garcia ve ark. yapmış olduğu çalışmada ACE inhibitörü olan moexiprilatin kemik resorpsiyonunu durdurduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada kırık iyileşmesi süresince periosteal kallus içindeki hipertrofik kondrositlerde ve osteoblastlarda ACE ekspresyonu olduğu rapor edilmiştir (2). Perindopril ile yapılan ACE inhibisyonu sonrası periosteal kallus formasyonunda, kırık hattındaki kemik köprüleşmesinde ve torsiyonel dirençte artma gözlenmiştir. Bu pozitif etkiler apoptozis inhibisyonuna bağlanmıştır (73). Bizim çalışmamızda da ACE inhibitörü verilen grupta 5. hafta sonunda yapılan değerlendirmede radyolojik ve histolojik olarak daha iyi kırık iyileşmesi olduğu gözlemlendi.

Son yıllarda ARB' lerinde ACE inhibitörlerine benzer bir mekanizmayla Anjiotensin II' nin kemik metabolizması üzerindeki zararlı etkilerini ortadan kaldırarak kemik kitlesini korumada yararlı olabileceği hipotezi araştırılmaya başlanmıştır. Broulik ve ark.' nın ACE inhibitörü ve ARB'lerin iskelet sistemi üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmalarında; ilaç verilen grupta kontrol grubuna göre, kemik mineral içeriği, kemik mineral dansitesi ve femur morfometrik parametrelerinde anlamlı bir farklılık elde edememişlerdir (85). Bizim çalışmamızda da ARB grubunda Kontrol grubuna göre 2. haftada anlamlı farklılık gözlenirken 5. haftada anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Bunun sebebinin ise ARB' lerin selektif AT-1 reseptör blokajı yaptığı, AT-2 reseptörlerine herhangi bir etkilerinin olmadığı, dolayısıyla Anjiotensin II' nin AT-2 reseptörü aracılığıyla hücreler üzerine etki ederek hücre proliferasyonunu azaltıp, apoptozisi arttırarak iyileşmede kısmi yavaşlama sağlaması olarak düşünülmüştür.

Farklı araştırmalarda kalp, damar duvarı, pankreas, böbrek, karaciğer gibi çeşitli organlarda RAS'ın fibrojeneze katkıda bulunduğunu göstermiştir (81,82). Yapılan başka çalışmalarda; perindoprille tedavi edilen hayvanların periostal kallus bölgesinde fibröz dokunun azalmış olması, RAS blokajıyla fibröz doku oluşumunun azaldığını göstermiştir (83). Bizim çalışmamızda da 2. haftada yapılan histolojik incelemede ACE inhibitörü ve ARB verilen gruplara göre kontrol grubunda daha fazla miktarda fibröz doku gelişmiş olduğu gözlenmiştir.

Lynn yapmış olduğu çalışmada 3887 çinli kadın ve erkeği çalışmaya dahil etmiş, ACE inhibitörü kullanımı ile kemik mineral dansitesi arasında yakın ilişki olduğunu saptamış, buna göre ACE inhibitörü kullanan yaşlı Çin nüfusunda kemik mineral dansitesinde iyileşme olduğunu bildirmiştir. ACE kullanımının kadınlarda yüksek femur boyun mineral dansitesi (+0.015 g/cm², p = 0.035) ile ilişkili olduğu , erkeklerde de aynı şekilde daha yüksek femur boyun (+0.015 g/cm², p= 0.017), total kalça (+0.016 g/cm², p = 0.021) ve lomber vertebra (+0.043 g/cm², p < 0.001) mineral dansitesi ile ilişkili olduğu bu çalışmada gösterilmiştir (79). Yine bir ACE inhibitörü olan Captopril ile yapılan bir çalışmada, ACE inhibitörü verilen yaşlı ratlarda lomber vertebra kemik dayanıklılığının daha iyi olduğu, osteoblastik kemik formasyonunun daha da geliştiği gösterilmiştir (80). Benzer olarak Schurman ve ark. nın yapmış oldukları çalışmada Anjiotensin II' nin azalmasıyla kemik dokudaki kalsiyum emiliminin arttığı gözlenmiştir. Bu etkinin b-FGF antikor ve prostaglandin sentetaz inhibisyonu ile ortadan kalktığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar çocuklarda görülen Nijmegen breakage syndrome (NBS) etyolojisinde ortaya atılan, “lokal b-FGF sentezi ile ang II düzeylerinde artış ve bu artışla birlikte kemik rezorbsiyonunda artış olmaktadır” hipotezini desteklemektedir (78).

Bu çalışmada elde edilen bulguların klinik anlamlılığı henüz belli değildir. Ancak, kırık iyileşmesinin çok boyutlu ve çok parametrelili bir durum olduğu göz önüne alınarak, değişik kırık tiplerine ait değerlendirme-sonuç çalışmaları yapılırken ACE inhibitörü ve ARB ilaç kullanımının da değerlendirme parametreleri arasında yer almasıyla oluşturulacak epidemiyolojik modeller sonucunda, nedensellik bağlamında klinik veriler elde edilebilecektir.

KAYNAKLAR

1. Einhorn TA. The cell and molecular biology of fracture healing. Clin Orthop. 1998;355 (I): 7-21.
2. Garcia P, Schwenzer S, Slotta JE, Scheuer C, Tami AE, Holstein JH, Histing T, Burkhardt M, Pohlemann T, Menger MD. Inhibition of angiotensin-converting enzyme stimulates fracture healing and periosteal callus formation – role of a local renin-angiotensin system. British Journal of Pharmacology 2010, 159, 1672–1680
3. Hiruma Y, Inoue A, Hirose S. Angiotensin II stimulates the proliferation of osteoblast-rich populations of cells from rat calvaria. Biochem Biophys Res Commun 1997; 230: 176-178.
4. Hatton R, Stimpel M, Chambers TJ. Angiotensin II generated from angiotensin I by bone cells and stimulates osteoclastic bone resorption in vitro. J Endocrinol 1997; 152: 5-10.
5. Barr MJ, Cohen MMJ. ACE inhibitor fetopathy and hypocalvaria the kidney-skull connection. Teratology 1991; 44:485-495.
6. Buckwalter JA, Einhorn TA, Marsh JL. Bone and joint healing. In: Bucholz RW, Heckman JD, Court-Brown C, eds. Rockwood and Green's Fracture in Adults, Cilt 1, altıncı baskı. Philadelphia, Pennsylvania, ABD: Lippincott Williams & Wilkins, 2006; 297 – 330.
7. Miller JD, McCreadie BR, Alford AI, Hankenson KD, Goldstein SA. Form and function of bone. In: Einhorn TA, O'Keefe RJ, Buckwalter JA, eds. Orthopaedic Basic Science, üçüncü baskı. Rosemont, IL, ABD: American Academy of Orthopaedic Surgeons, 2007; 129 – 157.
8. Webb JCJ, Tricker J. A review of fracture healing. Curr Orthop 2000; 14:457 – 463.
9. A Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R. Bone biology. Part 1. Structure, blood supply, cells, matrix and mineralization. J Bone Joint Surg Am. 1995; 77: 1256 – 1275.

- 10.** A Buckwalter JA. Musculoskeletal tissues and the musculoskeletal system. In: Weinstein SL, Buckwalter JA, eds. Turek's Orthopaedics, Principles and Their Applications, altıncı baskı. Philadelphia, Pennsylvania, ABD: Lippincott Williams & Wilkins, 2005; 10-19.
- 11.** Serinoglu S. Mikroskopik düzeyde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 2002; 55(2): 143-150.
- 12.** Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. (2. Nd edition) 1997 s.132-152.
- 13.** Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Basic Histology (8.th edition) s.132-151.
- 14.** Yetkin H, Yazıcı M, (ed). Miller'in Ortopedi Kitabı. Ankara: Akademi Doktorlar Yayınevi: 1-16, 2006
- 15.** Hausman MN, Schaffler MB, Majeska RJ. Prevention of fracture healing in rats by an inhibitor of angiogenesis. Bone. 2001;29(6):560-564.
- 16.** Canale TS. Campbell's Operative Orthopaedics 11. Basım Türkçe Basım,2688, 2010
- 17.** Miller MD. Review of orthopaedics. 2004 s.16.
- 18.** Muller AM: Overview of the fracture healing cascade. Injury 5–7; 2005
- 19.** Brinker RM, Miller MD. Basic sciences, Review of Orthopaedics. (2nd ed.) WB Saunders Co, Philadelphia, 1996 s1-26.
- 20.** Palma D. The management of fractures and dislocations. (2nd ed.) London, WB Saunders Co. 1970: 1: 10-20.
- 21.** Ege R. Travmatoloji-Kırıklar, eklem ve diğer yaralanmalar. Cilt 1, 5. baskı. Ankara 2001.
- 22.** Doblare M, Garcia JM, Gomez MJ. Modelling bone tissue fracture and healing: a review. Engineering Frac Mechanics. 2004; 17: 1809-1840.

- 23.** Cruess RL, Dumont J. Healing of bone, tendons and ligament. In. Rockwood and Green's fractures. 1sted. J. B. Lippincott, Philadelphia-1975: 97-118.
- 24.** Cook SD, Dalton JE, Barrack RL. Basic science in orthopedic surgery, Current Diagnosis&Treatment in Orthopedics; 1st ed.; by Skinner H; Appleton&Lange, 1995: 1-44.
- 25.** Cook SD, Dalton JE, Barrack RL. Basic science in orthopedic surgery, Current Diagnosis&Treatment in Orthopedics; 1 st ed.; ed. by Skinner H; Appleton&Lange, 1995:1-44.
- 26.** Brond AR, Rubin TC. Fracture healing. Surgery of the Musculoskeletal system New York: Churchill Livingstone, 1990:1;93-114.
- 27.** Brinker RM, Miller MD. Basic sciences, Review of Orthopaedics. (2nd ed.) WB Saunders Co, Philadelphia, 1996:1-26.
- 28.** Paloğlu S. Spinal füzyon. 2002:11-30.
- 29.** Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. 1997:114-130.
- 30.** Khan SN. Bone growth factors. Orthop Clin North Ame. 2000;31(3):375-378.
- 31.** Yılmaz C, Erdemli E, Selek H, Kınık H, Arıkan M. The contribution of vitamin C to healing of experimental fractures. Arch Trauma Surg. 2001;121:426-428.
- 32.** Barnes GL, Kostenuik PJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Growth factor regulation of fracture repair. J Bone Miner Res 1999, 14: 1805-1815.,
- 33.** Horwitz M, Stewart A, Greenspan SL. Short-term, high-dose parathyroid hormone-related protein as a skeletal anabolic agent for the treatment of postmenopausal osteoporosis. J Clin Endocrinol Metab 2003, 88: 569-575.
- 34.** Lane NE, Thompson JM, Strewler G, Kinney JH. Intermittent treatment with human parathyroid hormone (hPTH 1–34) increased trabecular bone mass but not connectivity in osteopenic rats. J Bone Miner Res 1995, 10: 1470-1477.

- 35.** Dempster DW, Cosman F, Kurland ES, Zhou H, Nieves J, Woelfert L, et al. Effects of daily treatment with parathyroid hormone on bone microarchitecture and turnover in patients with osteoporosis: a paired biopsy study. *J Bone Miner Res* 2001, 16: 1846-1853.
- 36.** Yakar S, Rosen CJ. From mouse to man: redefining the role of insulin-like growth factor-I in the acquisition of bone mass. *Proc Soc Exp Biol Med* 2003, 228: 245-252.
- 37.** Hankinson SE, Willet WC, Colditz GA, Hunter DJ, Michaud DS et al. Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and risk of breast cancer. *Lancet* 1998, 351: 1393-1396.
- 38.** Ma J, Pollak MN, Giovannucci E, Chan JM, Tao Y et al. Prospective study of colorectal cancer risk in men and plasma levels of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3. *J Natl Cancer Inst* 1999, 91: 620-625.
- 39.** Nagai H, Tsukuda R, Mayahara H. Effects of basic fibroblast growth factor (bFGF) on bone formation in growing rats. *Bone* 1995, 16: 367-373.
- 40.** Pun S, Florio CL, Wronski TJ. Anabolic effects of basic fibroblast growth factor in the tibial diaphysis of ovariectomized rats. *Bone* 2000, 27: 197-202
- 41.** Wronski TJ, Ratkus AM, Thomsen JS, Vulcan Q, Mosekilde L. Sequential treatment with basic fibroblast growth factor and parathyroid hormone restores lost cancellous bone mass and strength in the proximal tibia of aged ovariectomized rats. *J Bone Miner Res* 2001, 16: 1399-1407.
- 42.** Locklin RM, Oreffo ROC, Triffitt JT. Effects of TGFB and bFGF on the differentiation of human bone marrow stromal fibroblasts. *Cell Biol Int* 1999, 23: 185-194.
- 43.** Yılmaz C, Erdemli E, Selek H, Kınık H, Arıkan M. The contribution of vitamin C to healing of experimental fractures. *Arch Trauma Surg.* 2001; 121: 426-428.

- 44.** Eckardt H, Christensen KS, Lind M, Hansen ES. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 enhances bone healing in an experimental model of fractures at risk of nonunion. *Injury*. 2005; 36: 489-94.
- 45.** Einhorn TA, Majeska RJ, Mohaideen A, Kagel EM. A single percutaneous injection of recombinant human bone morphogenetic protein-2 accelerates fracture repair. *J Bone Joint Surg*. 2003; 85(A): 1425-35.
- 46.** Wang EA, Israel DI, Kelly S, Luxenberg DP. Bone morphogenetic protein-2 causes commitment and differentiation in C3h10T1/2 and 3T3 cells. *Growth Factors* 1993; 9: 57-71
- 47.** Onishi T, Ishidou Y, Nagamine T, Yone K, Imamura T, Kato M, et al. Distinct and overlapping patterns of localization of bone morphogenetic protein (BMP) family members and a BMP type II receptor during fracture healing in rats. *Bone* 1998; 22: 605-612
- 48.** Welch RD, Jones AJ, Bucholz RW, Reinert CM, Tjia JS, Pierce WA et al. Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on fracture healing in a goat tibial fracture model. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 1483-1490.
- 49.** Bouxsein ML, Turek TJ, Blake CA, D'Augusta D, Li X, Stevens M et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 accelerates healing in a rabbit ulnar osteotomy model. *J Bone Joint Surg* 2001; 83-A: 1219-1230.
- 50.** Radomsky ML, Aufdemorte TB, Swain LD, Fox CW. Novel formulation of fibroblast growth factor-2 and hyaluronan gel accelerates fracture healing in nonhuman primates. *J Orthop Res*. 1999; 17: 607-14.
- 51.** Yılmaz, E. D. and Kayaalp, S. O.: Peptid Yapılı Otokoidler ve Nitrik Oksid. In: Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji, 11 ed. Edi: Kayaalp, S.O.: Ankara: Hacettepe-Tas Kitapevi. 2005; chapt. 88, pp 1265-1298
- 52.** Jalowy, A., Schulz, R., and Heusch, G.: AT1 receptor blockade in experimental myocardial ischemia/reperfusion 1. *Basic Res Cardiol*. 1998; 93 Suppl 2: 85

- 53.** Lochard, N., Thibault, G., Silversides, D. W., Touyz, R. M., and Reudelhuber, T. L.: Chronic production of angiotensin IV in the brain leads to hypertension that is reversible with an angiotensin II AT1 receptor antagonist 2. *Circ Res.* 2004; 94: 1451
- 54.** Donoghue, M., Hsieh, F., Baronas, E., Godbout, K., Gosselin, M., Stagliano, N. et al.: A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9 3. *Circ Res.* 2000; 87: E1
- 55.** Brunner, H. R., Kirshman, J. D., Sealey, J. E., and Laragh, J. H.: Hypertension of renal origin: evidence for two different mechanisms 1. *Science.* 1971; 174: 1344
- 56.** Gören, B. and Fen, T.: Anjiyotensin Reseptör Antagonistleri. *T Klin Kardioloji.* 2003; 16: 25
- 57.** Horiuchi, M., Akishita, M., and Dzau, V. J.: Recent progress in angiotensin II type 2 receptor research in the cardiovascular system 10. *Hypertension.* 1999; 33: 613
- 58.** Battegay, E. J., de Miguel, L. S., Petrimpol, M., and Humar, R.: Effects of antihypertensive drugs on vessel rarefaction. *Curr Opin Pharmacol.* 2007; 7: 151
- 59.** Berry, C., Touyz, R., Dominiczak, A. F., Webb, R. C., and Johns, D. G.: Angiotensin receptors: signaling, vascular pathophysiology, and interactions with ceramide. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001; 281: H2337
- 60.** Bicket, D. P.: Using ACE inhibitors appropriately 1. *Am Fam Physician.* 2002; 66:461,
- 61.** Kayaalp, S. O.: Antihipertansif _laçlar. In: *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 11 ed. Edited by Kayaalp, S. O.: Ankara: Hacettepe-Tas, chapt. 38. 2005; pp 372-378
- 62.** Lane JM, Sandhu HS: Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am.* 1987; 18: 213-225

- 63.** Huo MH, Troiano NW The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats. *J Orthop Res.* 1991; 9:3,383–390
- 64.** Brand RA. Fracture Healing. In Evarts CM, (ed). *Surgery of Musculoskeletal System.* Newyork: Chuchill Livingstone, 1983: 65-71
- 65.** Alturfan, A. K., Akalın, Y. *Ortopedik Travmatoloji.* İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. 2002; 10-14
- 66.** Rowe, N.L., Williams, J. L. *Maxillofacial Injuries.* Edinburgh London Melbourne and New York: Churchill Livingstone. 1985; 50-52
- 67.** Einhorn TA: The cell and molecular biology of fracture healing. *Clin Orthop Relat Res.* 1998 ;355 Supp:7-21
- 68.** Phillips AM: Overview of the fracture healing cascade. *Injury* 2005; 365:5-7
- 69.** Cruess RL. Healing of bone, tendon and ligament. *Fractures* 2nd ed. Philadelphia, Lippincott Co, 1984; 1: 147-167.
- 70.** Hannouche D, Petite H, Sedel L: Current trends in the enhancement of fracture healing. *J Bone Joint Surg* 2001;836:157-64
- 71.** Gerstenfeld LC, Cullinane DM, Barnes GL, Graves DT, Einhorn TA: Fracture healing as a postnatal developmental process: Molecular, spatial, and temporal aspects of its regulation. *J Cell Biochem.* 2003; 88: 873-884
- 72.** Barnes GL, Kostenuik PJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA: Growth factor regulation of fracture repair. *J Bone Miner Res.* 1999; 14: 1805-1815
- 73.** Medhi, Bikash; Prakash, Ajay; Kaur, Sharonjeet; Bhagwat, Kishan; Chaudhary, S.; Goni, Vijay. Angiotensin Converting Enzyme Inhibition: Therapeutic Implications in Fracture Healing. *JK Science; Apr-Jun2011, Vol. 13 Issue 2, p107*
- 74.** Rejnmark L, Vestergaard P, Mosekilde L. Treatment with beta-blockers, ACE inhibitors and calcium channel blockers is associated with a reduced fracture risk: a nation wide case control study. *J Hypertension* 2006;24(3):581-89.

- 75.** Bader M. Tissue rennin-angiotensin aldosterone system: Targets for pharmacological therapy. *Annual Review Pharmacol & Toxicol* 2010; 50: 439-65.
- 76.** Haulica I, Bild W, Serban DN. Angiotensin peptides and their pleiotropic actions. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2005;6: 121-31.
- 77.** Izu Y, Mizoguchi F, Kawamata A, Hayata T, Nakamoto T, Nakashima K et al. Angiotensin II type 2 receptor blockade increases bone mass. *J Biol Chem* 2009;284: 4857-64.
- 78.** Schurman SJ, Bergstrom WH, Shoemaker LR, Welch TR. Angiotensin II reduces calcium uptake into bone. *Pediatr Nephrol* 2004;19: 33-35.
- 79.** Lynn H, Kwok T, Wong SY, Woo J, Leung PC. Angiotensin converting enzyme inhibitor use is associated with higher bone mineral density in elderly chinese. *Bone* 2006;38: 584-88.
- 80.** Liu YY, Yao WM, Wu T, Xu BL, Chen F, Cui L. Captopril improves osteopenia in ovariectomized rats and promotes bone formation in osteoblasts. *J Bone Miner Metab* 2011;29(2):149-58.
- 81.** Kuno A, Yamada T, Masuda K, Ogawa K, Sogawa M, Nakamura S et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitor attenuates pancreatic inflammation and fibrosis in male Wistar Bonn/Kobori rats. *Gastroenterology* 2003; 124: 1010–1019.
- 82.** Shirazi M, Noorafshan A, Bahri MA, Tanideh N. Captopril reduces interstitial renal fibrosis and preserves more normal renal tubules in neonatal dogs with partial urethral obstruction: a preliminary study. *Urol Int* 2007; 78: 173–177.
- 83.** Yoshiji H, Kuriyama S, Fukui H. Blockade of renin-angiotensin system in antifibrotic therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22 (Suppl. 1): S93–S95.
- 84.** Pocock NA, Eisman JA, Hooper J, Yeates M, Sambrook PN, Elberl S. Genetic determinants of bone mass in adults. *J Clin Invest* 1987; 80: 706-710.

85. Broulik PD, Tesar V, Zima T, Jirsa M. Impact of antihypertensive therapy on the skeleton: Effects of enalapril and AT1 receptor antagonist Losartan in female rats. *Physiol Res* 2001; 50: 335-338.

Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.
Zonguldak Karaelmas Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

29

TOPLANTI TARİHİ : 07/03/2012
TOPLANTI NO : 2012/02

10- ZKÜ Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı öğretim Üyesi Doç.Dr. Ahmet BAYAR'ın 2012-13-07/03 Protokol no'lu "Anjiotensin Konverting Enzim İnhibitörleri ile Anjiotensin Reseptör Blokörlerinin Kırık İyileşmesine Olan Etkisi" konulu başvurusunun Etik Kurul ilkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR

Prof. Dr. Z. Nur BANOĞLU
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı